

**Caracterización de *Vibrio* spp aislados en agua de jagüeyes de consumo humano en
rancherías ubicadas en Uribia, La Guajira.**

Universidad popular del cesar

Facultad ciencias básicas

Programa de microbiología

Valledupar, Colombia

2023

**Caracterización de *Vibrio* spp aislados en agua de jagüeyes de consumo humano en
rancherías ubicadas en Uribia, La Guajira.**

Universidad popular del cesar

Facultad ciencias básicas

Programa de microbiología

Valledupar, Colombia

2023

Nota de aceptación

Presidente del jurado

Jurado

Jurado

Valledupar, ___ de _____ 2023

RESUMEN

A nivel mundial se conoce el género *Vibrio* como causante de vibriosis, con una letalidad importante en humanos. En Colombia, la distribución geográfica del género es desconocida. Sin embargo, en este estudio se investigó su presencia en Jagüeyes, un método rudimentario utilizado por la comunidad Wayuu para abastecerse de agua. El objetivo de esta investigación fue caracterizar *Vibrio* spp aislados en aguas de jagüeyes para consumo humano en rancherías de Uribia, La Guajira. Para ello, se realizó la pesquisa de las especies de este género en seis jagüeyes: Urruracha, Kalinapion, corintios, Talaaulamana, Coroportain y Kalinapion B mediante métodos de identificación tradicionales y automatizadas como microscan walkaway e identificación proteómica (MALDI-TOF), perfil de susceptibilidad, resistencia a antibióticos y análisis de factores enzimáticos de virulencia mediante técnicas convencionales.

Se aislaron 27 morfotipos de *Vibrio* spp, por especie predominó *V. cholerae* en un 100 %; el perfil de susceptibilidad y resistencia a antibióticos evidencio que el 19 % de las cepas fueron resistentes a ampicilina, 15 % tetraciclinas y algunas con susceptibilidad intermedia: 56 % cefazolina, 11 % ceftazidima y 26 % cepas a imipenem. El análisis enzimático mostró la presencia de hemolisina en el 100 % de las cepas, lecitina en el 89 %, gelatinasa 85 %, Dnasas 81 % y proteasas en un 56 %.

Por medio de este trabajo se confirma la presencia de una especie de *Vibrio* potencialmente patógena en el municipio de Uribia, La Guajira, lo que podría considerarse como un gran problema de salud pública para las comunidades indígenas presentes en estas zonas

Palabras claves: *Vibrio* spp, microscan walkaway, MALDI-TOF, antibióticos, enzimas

SUMMARY

The genus *Vibrio* is known worldwide as the cause of vibriosis, with significant lethality in humans. In Colombia, the geographical distribution of the genus is unknown. However, this study investigated its presence in Jagüeyes, a rudimentary method used by the Wayuu community to supply water. The objective of this research was to characterize *Vibrio* spp isolated in jagüey waters for human consumption in ranches in Uribia, La Guajira. To this end, the species of this genus were investigated in six jagueys: Urruracha, Kalinapion, Corinthians, Talaaulamana, Coropontain and Kalinapion B using traditional and automated identification methods such as walkaway microscan and proteomic identification (MALDI-TOF), susceptibility, resistance to antibiotics and analysis of enzymatic virulence factors using conventional techniques.

27 morphotypes of *Vibrio* spp were isolated, by species *V. cholerae* predominated by 100%; The profile of susceptibility and resistance to antibiotics showed that 19% of the strains were resistant to ampicillin, 15% tetracyclines and some with intermediate susceptibility: 56% cefazolin, 11% ceftazidime and 26% strains to imipenem. The enzymatic analysis showed the presence of hemolysin in 100% of the strains, lecithin in 89%, gelatinase 85%, DNAses 81% and proteases in 56%.

Through this work, the presence of a potentially pathogenic *Vibrio* species in the municipality of Uribia, La Guajira, is confirmed, which could be considered a major public health problem for the indigenous communities present in these areas.

Keywords: *Vibrio* spp, microscan walkaway, MALDI-TOF, antibiotics, enzymes

Tabla de contenido

RESUMEN	1
SUMMARY.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	8
3. JUSTIFICACIÓN	11
4. OBJETIVOS	13
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	13
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
5. MARCO TEÓRICO.....	14
5.1 Antecedentes	14
5.2. Marco conceptual.....	17
5.2.1 Enfermedades transmitidas por agua.....	17
5.2.2 Genero <i>Vibrio</i>	17
5.2.2.1 Generalidades <i>Vibrio</i>	17
5.2.3 Relación de <i>Vibrio</i> spp y Salud pública	18
5.2.3.1 Vibriosis	18
5.2.3.2 Especies de <i>Vibrio</i> asociadas a vibriosis.....	18
5.2.3.3 <i>V. cholerae</i> Non-O1/O139.....	19
5.2.3.4 <i>V. alginolyticus</i>	19
5.2.3.5 <i>V. parahaemolyticus</i>	19
5.2.3.6 <i>V. fluvialis</i>	20
5.2.3.7 <i>V. vulnificus</i>	20
5.2.3.8 <i>V. mimicus</i>	20
5.2.4 Marcadores enzimáticos de patogenicidad de <i>Vibrio</i> spp.....	20
5.2.4.1 Hemolisinas	21
5.2.4.2 Proteasa	21
5.2.4.3 DNasa	21
5.2.4.4 Gelatinasa.....	22
5.2.4.5 Lecitinasa.....	22
5.2.4.6 Otros factores de virulencia	22
5.2.4.7 Quórum sensing	22
5.2.4.8 Pili	23
5.2.4.9 Apropiamiento de hierro	23
5.2.5 Técnicas de identificación del género <i>Vibrio</i>	23
5.2.5.1 Filtración por membranas.....	23

5.2.5.2 Preenriquecimiento con agua peptonada alcalina y cloruro de sodio	24
5.2.5.3 Medios de cultivo	24
5.2.5.3.1 Medio de cultivo TCBS.....	24
5.2.5.3.2 Medio nutritivo NaCl 0,5%.....	24
5.2.5.4. Identificación por pruebas presuntivas del género <i>Vibrio</i>.....	25
5.2.5.4.1. Prueba de la Oxidasa.....	25
5.2.5.4.2. Prueba de la cuerda	25
5.2.5.4.3. Tinción de Gram	25
5.2.5.5. Identificación por Pruebas automatizadas específicas	26
5.2.5.5.1 Microscan Walkaway.....	26
5.2.5.5.2. MALDI-TOF	26
5.2.6. Técnicas de determinación de marcadores fenotípicos de patogenicidad del género <i>Vibrio</i>.....	27
5.2.6.1. Agar leche.....	27
5.2.6.2. Agar DNA.....	27
5.2.6.3. Agar Gelatinasa	27
5.2.6.4. Agar lecitina	27
5.2.6.5. Agar base sangre	28
5.3. Marco legal.....	28
6. METODOLOGÍA.....	29
6.1 Tipo de estudio y línea de investigación.....	29
6.2 Universo y población.....	29
6.3 Diseño metodológico.	30
6.3.1. Entrevista para definir el uso de agua de los jagüeyes de las rancherías.....	30
6.3.2 Toma de muestra	30
6.3.3 Procesamiento de muestras de agua	31
6.3.4 Aislamiento en medio de cultivo selectivo y diferencial.....	31
6.3.4.2. Siembra en medio nutritivo	32
6.3.5. Pruebas presuntivas para el acercamiento al género <i>Vibrio</i>	32
6.3.6 Identificación por método automatizado específico y perfil de susceptibilidad y resistencia a antibióticos	32
6.3.7 Identificación confirmatoria de las especies de <i>Vibrio</i>	32
6.3.8. Determinación de marcadores fenotípicos de patogenicidad de <i>Vibrio</i> spp	32
6.4. Unidad de análisis.....	33
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
7.1 identificación de <i>Vibrio</i> spp	34

7.2 Variación en concentración de pH y NaCl.....	37
7.3 Identificación y categorización bioquímica mediante Microscan Walkaway	41
7.4 Identificación proteómica mediante espectrofotometría de masas (MALDI-TOF)	45
7.5. Patrón de susceptibilidad y resistencia de las cepas aisladas	48
7.6 Determinación de factores de virulencia enzimáticos	54
8. CONCLUSIÓN.....	58
9. RECOMENDACIONES	59
10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	60
11. ANEXOS.....	80

Índice de tablas

Tabla 1.Número de cepas y frecuencia total de aislamiento de bacterias del género <i>Vibrio</i> en las zonas de muestreo, Uribia, La Guajira.....	34
Tabla 2.Pruebas bioquímicas diferenciales realizadas a las distintas cepas de <i>Vibrio</i> aisladas de jagüeyes mediante Microscan Walkaway	42
Tabla 3. Susceptibilidad a los antimicrobianos de las cepas de <i>V. cholerae</i>	49

Índice de figuras

Figura 1. Mapa de las ubicaciones de los jagüeyes muestreados en Uribia, La Guajira.....	29
Figura 2. Cultivo en placa (24 h) y tinción de Gram de la cepa Urru 1 7,6 0,5 % NaCl en agar TCBS.....	36
Figura 3. Distribución de <i>Vibrio spp</i> en diferentes condiciones de pH y porcentaje de NaCl.....	38
Figura 4. Distribución de <i>Vibrio spp</i> por puntos de muestreos de los jagüeyes.....	40
Figura 5. Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALIB3 8,6 2 %.....	40
Figura 6. Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALIB3 8,6 0,5 %.....	40
Figura 7. Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALIB2 8,6 2 %.....	40
Figura 8. Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALI2 8,6 2 %	40
Figura 9. Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALIB1 7,6 2 %.....	40
Figura 10 . Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALIB2 7,6 0,5%	40
Figura 11. Reacciones enzimáticas presentes en las cepas.....	54
Figura 12 . Frecuencia de aislados que expresaron factores de virulencia	40

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades diarreicas agudas (EDA) son consideradas como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo, (Herrera-Benavente IF y col., 2018). Dentro de sus agentes causales, se identifican diferentes bacterias, sin embargo, *Vibrio cholerae* es una de las especies con mayor importancia clínica y epidemiológica, por ser el agente causal de una enfermedad conocida como Cólera. (Hsueh BY y col., 2019; Parte AC, 2018).

Véron en 1965, propuso agrupar aquellos géneros cuyas especies fueran oxidasa positiva y móviles por flagelo polar (familia Vibrionaceae). La familia está estructurada por los géneros *Enhydrobacter*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* y *Vibrio*. El género *Vibrio* incluye 37 especies de las cuales 12 se han identificado como agentes etiológicos de enfermedades en humanos, y de éstas, 10 se consideran halófilas (*V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cincinnatiensis*, *V. damsela*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*)

Las bacterias pertenecientes al género *Vibrio* se conocen por causar enfermedades coléricas y no coléricas, enfermedades persistentes en países en vía de desarrollo y se estima que por lo menos cada año ocurren hasta 4 millones de casos, causando un promedio de 21.000 a 143.000 muertes según la Organización Mundial de Salud (OMS, 2020). *V. cholerae* se puede aislar de diversas fuentes como el agua, el suelo y algunos alimentos como pescados, mariscos entre otros y el ser humano que es conocido como un hospedero accidental y transitorio (González LM y col., 2011; Chin J y col., 2001). Desde el punto de vista morfológico, este microorganismo posee una estructura curva con la presencia de un flagelo polar, dependiendo de la especie contará con ciertos factores de virulencia, así como diferentes actividades enzimáticas y patrones de susceptibilidad y resistencia a antibióticos (Farmer J y col., 2015).

Además, estos microorganismos están involucrados en enfermedades de animales, representando un peligro para la fauna acuática. (Lafourcade, 2005). Los vibrios son bacterias heterótrofas, cuyo hábitat primario son los ecosistemas acuáticos salobres y marinos, donde ocupan una gran diversidad de nichos. Se encuentran presentes en columnas de aguas y sedimentos, por lo tanto, se pueden encontrar como bacterias de vida libre, comensales, saprobias o parásitas. (Rosas *et al*, 2004).

Gran parte de los municipios de La Guajira tiene un gran déficit de los servicios públicos de saneamiento de agua potable, los cuales son necesarios para mejorar la calidad de vida de la población. Mejía Gómez (2022). Igualmente, Según Hernández *et al.*, (2011) el agua que no cumpla los parámetros adecuados puede causar enfermedades gastrointestinales que afectan la microbiota natural del aparato digestivo; debido a la presencia de microorganismos patógenos, los síntomas más comunes son fiebre, diarrea y vómito.

Actualmente, es poco común mencionar la presencia de microorganismos patógenos presentes en el agua, pues deben existir condiciones que los beneficien para poder desarrollarse. (Banerjee, R., Das, B., Nair, B., Basak, S., 2014). Es importante mencionar que no existe suficiente evidencia acerca de especies del género *Vibrio* presente en jagüeyes los cuales estén causando infecciones gastrointestinales, que en su mayoría atentan contra la vida de las personas. El propósito de este estudio fue caracterizar cepas de *Vibrio* spp, obtenidas de jagüeyes destinados al consumo humano, para lograr esto, se emplearon técnicas microbiológicas tanto presuntivas como definitivas, permitiendo así una identificación precisa y detallada de las cepas estudiadas

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El agua es necesaria para la elaboración de alimentos y la realización de muchas actividades antropogénicas. (Andino, F. 2010). Este recurso hídrico, puede contaminarse mediante el vertimiento de aguas residuales, industriales, explotaciones ganaderas, restos orgánicos y biológicos, entre otras. (Rodríguez,2010) Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el consumo de aguas contaminadas está relacionado con la transmisión de enfermedades como el cólera y otras diarreas, la disentería, la hepatitis A, la fiebre tifoidea y la poliomielitis, donde más de 842.000 personas mueren cada año de diarrea como consecuencia de la insalubridad del agua, saneamiento insuficiente o mala higiene de las manos (OMS, 2022). Además, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) asegura que muchas de las enfermedades por el consumo y uso del agua contaminada se debe a la presencia de microorganismos y sustancias químicas. (OPS,2020)

Vibrio spp, es una de las bacterias establecidas como contaminante del agua, estos microorganismos ocasionan enfermedades como lo es la vibriosis que es provocada por *V.parahaemolyticus*, *V.alginolyticus* y *V.vulnificus*, *V. mimicus*, *Vibrio cholerae* NO-O1/NO-O139 entre otras especies, mediante el consumo de aguas estuariales, salobres, marinas o comidas de mar y la exposición de heridas a aguas marinas .(Baker et al, 2018), *Vibrio cholerae* se encuentra de forma natural en la microbiota de las zonas costeras marinas y estuarios de América del Norte. A pesar de esto, existe una escasez de investigaciones acerca de su presencia en áreas que no son costeras en regiones de Suramérica y su presencia puede deberse a las condiciones ambientales generadas por el cambio climático; factor considerado como determinante en las nuevas propagaciones de enfermedades emergentes transmitidas por el agua. (Baker et al., 2017; Daboul et al., 2020).

En el año 2019, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) informaron de 80,000 casos de vibriosis en Estados Unidos, con un lamentable saldo de entre

500 y 1,000 muertes. Esto es debido a que las personas con sistemas inmunológicos debilitados, especialmente aquellos que padecen enfermedades hepáticas crónicas, son más susceptibles a enfermarse por *Vibrio* spp a través del torrente sanguíneo, lo que puede resultar en una enfermedad grave y potencialmente letal. Sin embargo, las manifestaciones clínicas de esta enfermedad van a depender del agente causal, que normalmente se caracteriza por una diarrea acuosa, acompañada de cólicos abdominales, náuseas, vómitos y fiebre.(CDC,2019)

Por otro lado, se encuentra la enfermedad colérica producida por *V. cholerae* de serogrupos O1/O139, causa una diarrea acuosa aguda grave, náuseas, vómitos; ocasionando una gran deshidratación rápida por el desequilibrio electrolítico, que, si no es tratada de manera oportuna con antibióticos y rehidratación oral, puede llegar a un shock hipovolémico, acidosis metabólica y finalmente la muerte en muy poco tiempo (OMS, 2022; Whitten, 2018).

Según la OMS (2022), a nivel mundial se estima que cada año se presentan de 1,3 a 4,0 millones de casos de cólera y de 21.000 a 143.000 muertes. En Colombia, los últimos casos reportados de cólera datan del año 2004, específicamente tres casos provenientes de Nariño; desde entonces, hasta la fecha actual, no se ha registrado ningún caso de cólera en el país. (Minsalud, 2011).

El departamento de La Guajira presenta una brecha en cobertura y calidad de servicios de acueducto y alcantarillado en zonas urbanas y rurales. Según el Censo Nacional de población y vivienda, En el año 2005, el Municipio de Uribia tenía una cobertura de acueducto del 85 %. Sin embargo, para el año 2018, esta cifra se redujo significativamente al 39 %, mostrando una disminución porcentual del 45 %. Del mismo modo, el servicio de alcantarillado contaba con un 59 % y para el 2018 un 52 %, evidenciando una disminución del 7 %. (DANE, 2018). Por lo tanto, al no tener acceso a servicios adecuados de agua, saneamiento e higiene presentan problemas de salud pública (OPS,2022)

Las comunidades Wayuu, ubicadas municipio de Uribia, no disponen de agua potable, por lo que suelen elaborar jagüeyes o pozos grandes para el almacenamiento de agua de lluvia que son utilizadas para el consumo humano, limpieza, preparación de alimentos, lavado de ropa y utensilios de cocina, entre otros. Estos reservorios están expuestos a contaminarse debido a que no cuentan con una zona delimitada que impida el ingreso de animales y humanos, además de la contaminación por residuos orgánicos al agua y la influencia minera en la zona; creando las condiciones propicias para la transmisión de microorganismos. (Corpoguajira, 2007; Toledo *et al.*, 2020) Del mismo modo, estos microorganismos no autóctonos, pueden ingresar de manera natural a estas áreas de estudio a través de factores ambientales como la humedad, el aire y la precipitación, sirviendo como un medio ideal para la dispersión de diversos tipos de microorganismos, incluyendo esporas, bacterias, virus y hongos, originados en otros entornos.(Rosa, 2002).

Por ello, es importante saber si se encuentran especies de *Vibrio* en estos depósitos de agua, que puedan ser posibles agentes etiológicos de enfermedades diarreicas, afectando a la comunidad Wayuu y principalmente a los niños. (Corpoguajira, 2007) Finalmente, después de una revisión bibliográfica exhaustiva no se encontraron reportes sobre la presencia de *Vibrio* spp en este tipo de aguas en la Alta Guajira. Igualmente, su consideración como potenciales agentes causales de enfermedades diarreicas, por eso se busca identificar, caracterizar bioquímicamente, patrones de resistencia, sensibilidad y presencia de enzimas extracelulares como factores de virulencia.

Por consiguiente, surge la pregunta de investigación:

¿Se encuentran presentes especies potencialmente patógenas de *Vibrio* como: *V.cholerae*, *V.paraahaemolyticus*, *V.mimicus*, *V.vulnificus*, entre otros, con factores enzimáticos de virulencia en los jagüeyes de rancherías de Uribia, La Guajira?

3. JUSTIFICACIÓN

El municipio de Uribia es considerado como la capital de los indígenas en Colombia, la mayoría de sus habitantes se ubican en zonas desérticas fuera de la zona urbana, viviendo en comunidades donde la cabeza del hogar es representada por una mujer la cual es la autoridad dentro de la comunidad, esta a su vez se encarga de disponer de todos los recursos necesarios para la supervivencia de cada uno de sus integrantes o familiares, el principal objetivo es el abastecimiento de agua, al ser un lugar desértico su disposición es complicada, en algunas ocasiones se abastecen por carro tanques llenos de agua, cabe resaltar que solo llegan al área más central de municipio y cuentan solo con una o dos pimpinas por comunidad, el ingreso al sector puede ser complicado (ONIC - Wayuu, 2023) .

Sin embargo, las comunidades cuentan con jagüeyes como reservorios para obtener agua, a partir de la lluvia o excavación manual, de esta manera satisfacen necesidades primarias, como ingerirla, preparar alimentos, lavar utensilios de cocina y bañarse. Estas actividades son realizadas en la mayoría de los casos sin un proceso de purificación, decantación o un método el cual baje la carga de contaminantes microbianos, aproximadamente 154.856 habitantes Wayuu en Uribia se encuentran expuestos a enfermedades infecciosas. La presencia de *Vibrio* spp en adultos y niños Wayuu originaria por la ingesta de agua de los jagueyes causa enfermedades diarreicas agudas (EDA), deshidratación y eventualmente la muerte, actualmente aún es considerado como una amenaza mundial y de interés público (Parra,2023).

Por este motivo, realizar esta investigación busca dar a conocer la importancia sobre la presencia de *Vibrio* spp y su potencial patogénico en los jagueyes mediante el uso de técnicas microbiológicas tradicionales, serológicas y moleculares, tales como preenriquecimiento, siembra, identificación morfológica, medios de cultivos artesanales; detección del género microbiano por medio de MicroScan WalkAway y MALDI-TOF, aportarían la información necesaria para la identificación de la especie de *Vibrio* y detección de los factores enzimáticos de virulencias.

Por otro lado, se pretende tener un impacto social, mediante la concientización acerca de las implicaciones del uso de esta agua sin previo tratamiento. Además, este estudio es relevante, ya que luego de una revisión bibliográfica exhaustiva no se encontró ningún artículo, tesis o trabajo de grado que trate la temática de *Vibrio* spp en jagüeyes y su potencial como agentes patógenos para la población Wayuu.

Esta pesquisa del género *Vibrio* en este tipo de agua superficial, posiblemente será la primera que brindará información sobre las especies de *Vibrio* que tienen como hábitat estos depósitos de agua. Finalmente, gracias a los resultados de la investigación se espera llenar el vacío del conocimiento, llevando a la apertura de nuevas investigaciones, propuestas de mejoramiento y desarrollo para las comunidades Wayuu.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Caracterizar *Vibrio* spp aislados en aguas de jagüeyes para consumo humano en rancherías ubicadas en Uribia, La Guajira.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir los aislados según su morfotipos, mediante la diferenciación macroscópica, microscópica y pruebas presuntivas del género bacteriano
- Categorizar bioquímicamente, patrón de sensibilidad a antibióticos de los morfotipos aislados de *Vibrio* spp, mediante el uso de pruebas automatizadas específicas y confirmación proteómica a través de espectrofotometría de masas
- Determinar marcadores fenotipos de patogenicidad en las cepas identificadas mediante medios de cultivos que evidencian la actividad enzimática de las especies aisladas

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Antecedentes

Antes de mencionar las investigaciones realizadas, es importante resaltar que no existen estudios de *Vibrio spp* en aguas de jagüeyes de Rancherías de Uribia, La Guajira por lo que, se seleccionaron análisis relacionados con nuestra investigación.

Por consiguiente, existen estudios internacionales, como el grupo de Venkateswaran (1989), su objetivo fue la presencia y caracterización de *Vibrios* toxigénicos en muestras de agua superficial y de sedimentos del entorno de agua dulce del río Ohta. Implementaron métodos convencionales, cultivos, filtración, e identificación de hemolisinas. Evidenciando la presencia de 361 cepas y 12 especies de *Vibrio*, donde el más prevalente fue *Vibrio parahaemolyticus*, el cual se aisló en agua dulce. De las 361 cepas, 132 fueron hemolíticas y en una caracterización adicional revelaron 82 % de *Vibrio* hemolíticos (107 cepas) produjeron diversas toxinas, por lo que el 71 % fue de 93 cepas, con elaboración de citotóxicas, el 55 % fueron 72 cepas con la elaboración de hemolisinas y el 44 % de 58 cepas respondieron para las dos toxinas (citotoxina y hemolisina) (Venkateswaran, 1989)

Otros estudios como el de ThongChankaew (2011), usaron la técnica de cultivo, Electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (DGGE), evidenciando que *Vibrio parahaemolyticus* era el más prevalente en el lago Songkhla en época de verano, a nivel de técnicas *Vibrio parahaemolyticus* fue el más detectado por DGGE, mientras que *V. alginolyticus* fue la más prevalente por Cultivo (TCBS). Sin embargo, se observaron especies como *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. navarrensis*, *V. fluvialis*, *V. albensis*, *V. brasiliensis*, *V. natriegens*, *V. cholerae* (non-O1/non-O139), y *V. mimicus*. De estas especies, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. fluvialis*, *V. cholerae*, y *V. mimicus* son considerados patógenos de humanos. (Thongchankaew et al., 2011) Del mismo modo Movaghari (2017) en la provincia de Golestán, Irán, determinó la prevalencia de *Vibrio spp.*, y los genes de virulencia *tcpA* y *ctxB* en muestras aisladas de agua superficial y agua salada. *Vibrio alginolyticus* fue

predominante con un 38 %, seguido de *Vibrio parahaemolyticus* 23 %, *Vibrio harvei* 15 %, *Vibrio fluvialis* 14 % y *Vibrio damsela* 10 %. Ningún aislamiento presentó genes de virulencia. (Movaghari,2017)

Por otro lado, Chepe y Silva (2017), no identificaron *Vibrio spp* en río o lago, estos investigadores lo realizaron en aguas de pozo subterráneo del distrito de Mórrope-Lambayeque, analizo 21 pozos y obtuvo, *Vibrio spp* 5 (24 %) y 16 (76 %) negativos. De los pozos subterráneos, se aislaron 9 especies de *Vibrio spp*, se identificaron que el 14 % fue *Vibrio cholerae* no O1 (5 cepas) 11 % *Vibrio fluvialis* (4 cepas). A diferencia de Chunga (2018) que aisló cepas con factores de virulencia, con el gen *tdh* y con el gen *trh*, evidenciando que la frecuencia del gen *tdh* fue mayor que la del gen *trh* tanto en aislados como en muestras de agua de mar e igualmente la existencia de factores ambientales asociados a su presencia como la temperatura y salinidad (Chunga,2018)

En aguas costeras y de estuario de Louisiana, Maryland, Mississippi y Washington de Estados Unidos, Johnson *et al* (2018) usó métodos moleculares para genes asociados a la hemolisina termolábil (*tlh*) y hemolisina directa termoestable (*tdh*) evidenciando que eran potencialmente patógenos. Adicionalmente, Mubassir (2019) en un río evaluó la resistencia a antibióticos y Hemólisis de *Vibrio spp*, observaron que los cuerpos de aguas son significativos en la propagación y transmisión de infecciones por *Vibrio spp*. (Mubassir et al, 2019)

Boya (2021) mediante una PCR detectó diferentes especies de *Vibrio* en aguas de Benin, obtuvo *Vibrio cholerae* 35 %, *Vibrio parahaemolyticus* 18,60 % y *Vibrio alginolyticus* 13,95 %. En el mismo año Ávila y su grupo de investigadores (2021) en la ciudad de Reynosa, tomaron muestras del caudal del Río Bravo y de los dos canales interiores que recorren la ciudad para identificar las especies de *Vibrio* y los genes de virulencia. Observaron que las cepas aisladas fueron identificadas como *Vibrio cholerae* (74,5 %), *Vibrio spp.* (1,2 %) y *Vibrio mimicus* (0,6 %). En *V. cholerae*, los genes *hlyA*, *ompU*, *tcpA*, *toxR* en el 78,3, 62,5, 15-8 y 90,8 %

respectivamente. y Solo en *V. mimicus* se detectaron los genes ompU y vmh. (Boya *et al.*, Ávila *et al.*, 2021)

En el territorio colombiano, se han venido desarrollando investigaciones con identificaciones bioquímicas, serotipificación, métodos moleculares y presencia de genes de patogenicidad, factores de virulencia y resistencia a antibióticos de las especies de *Vibrio*. Desde muestras marinas hasta estuariales y dulces, destacándose la presencia de especies de *Vibrio*, especialmente *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*, portando genes de virulencia que codifican para hemolisinas, proteasas, colagenasas y resistencia a numerosos antibióticos de uso clínico (Ceccarelli *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2017; Kahler *et al.*, 2015). Recientemente Sánchez (2020) identificó y caracterizó genotípicamente aislamientos de *V. cholerae*, *V. Parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. fluvialis* y *V. vulnificus*, recuperadas de muestras ambientales (Brindadas por INVEMAR), obtuvo la prevalencia de *V. parahaemolyticus* (41\195) y *V. alginolyticus* (28\195) y portaron genes de virulencia como nanH (43 %), hlyA (54.5 %), tdh (16,4 %), vfh (96 %), vcgC (85.7 %) o vcgE (14.2 %). (Sánchez, 2020).

Cabrera (2008), junto con colaboradores, realizaron un estudio para conocer la susceptibilidad intestinal causada por *V. cholerae* no O1. Dentro de este estudio evaluaron, la presencia de factores de virulencia (Hemolisinas, gelatinasa, lecitinasa, hemaglutinación, Dnasa, elastasa y adherencia a células Hep-2), de la cual obtienen como resultado que las enzimas hemolisinas y gelatinasa estuvieron presentes en un 100 % de las cepas investigadas, en cuanto a la adherencia a celular Hep-2 observaron en el 87 % de las cepas, el resto de las enzimas analizadas, lecitinasa, elastasa y DNasa resultaron positivas en el 80 %, 86 % y 73 % de las cepas, los investigadores concluyen que las cepas estudiadas al menos dos factores de virulencia de los investigadores se encontraron presentes en todas las cepas con un 100 %. (Cabrera R, 2008)

Finalmente, se destaca que, de las muestras analizadas, ninguna corresponde a las aguas de jagüeyes, por lo que no se dispuso de muchas bibliografías a nivel nacional ya que todas estaban enfocadas a nivel alimentario y marino.

5.2. Marco conceptual

5.2.1 Enfermedades transmitidas por agua

Las enfermedades transmitidas por agua son aquellas enfermedades causadas por el consumo de agua contaminada (restos fecales de humanos o animales) los cuales incluyen a una variedad de microorganismos patógenos tales como, bacterias, hongos, virus y parásitos, dentro de estos factores se encuentra la diarrea siendo la más frecuente, es uno de los principales problemas de interés de salud pública. (Bos R, 2005).

5.2.2 Genero *Vibrio*

5.2.2.1 Generalidades *Vibrio*

El género *Vibrio*, pertenece a la familia *Vibrionaceae* (Chimetto et al.2011), se caracteriza por ser bacilos curvos Gram negativos, móviles, anaerobio facultativo, oxidasa y catalasa positiva, antígeno somático O y un amplio crecimiento en rangos de temperatura por lo general habita en zonas acuáticas de manera libre y en algunos casos se encuentra asociado con fito/zooplancton, por su resistencia a NaCl. (García et al, 2010).

Este género reúne unas 80 especies, 12 de estas son patógenas para el hombre, entre las más comunes están; *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. fluviales*, *V. hollisae*, *V. damsela* y *V. mimicus*, *V. furnissii* *V. metschnikovii*, *V. cincinnatiensis*, *V. carchariae*, (Morris y Achenson, 2003)

Hábitat

Se encuentran en ambientes acuáticos (ecosistemas marinos y fluviales), donde adoptan formas de vida libre, como simbioses de animales acuáticos o como parásitos de peces

(Thompson et al., 2004). Crecen a una temperatura de 35 °C a 37 °C. Son consideradas halófilas, por lo que requieren para un crecimiento óptimo de concentraciones de NaCl (no inferior al 1 %), por lo general una concentración del 0,5 % permite el aislamiento de las mismas. (Bermejo, 2000).

5.2.3 Relación de *Vibrio* spp y Salud pública

5.2.3.1 Vibriosis

La vibriosis son todas las infecciones causadas por especies de *Vibrio*, las cuales son diferentes a *V. cholerae* O1/O139 (infecciones de heridas y cuadros gastrointestinales auto limitados) (Raszl, et al., 2016). Se adquiere por consumo de agua, alimentos marinos con poca cocción y en menor proporción al tener contacto directo con la herida en un ecosistema marino. Por lo general los brotes de vibriosis se suelen originar cuando hay un cambio de las condiciones ambientales produciendo un aumento en la velocidad de reproducción bacteriana (Cuéllar y Anjel, 2013)

Actualmente existen variaciones en diferentes condiciones ambientales que ha logrado un incremento de población en cuanto a su especie en su nicho ecológico, siendo una reserva potencialmente patógena para el hombre (Morris y Achenson, 2003).

5.2.3.2 Especies de *Vibrio* asociadas a vibriosis

Existen formas no coléricas, producida por otros serogrupos de *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. hollisae*, *V. mimicus*, *V. alginolyticus* *V. fluvialis* y *V. vulnificus*. Normalmente habitan en aguas saladas cálidas, por lo general. *mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. hollisae* causan brotes de diarrea originados a partir de alimentos marinos mal cocidos. *V. alginolyticus* y el *V. vulnificus* causan infecciones graves de las heridas; ninguno de los anteriormente mencionados causa enteritis. (Bush y Vázquez, 2020)

5.2.3.3 *V. cholerae* Non-O1/O139

Existen cerca de 200 serogrupos que se incluyen en este grupo que no son portadores de la toxina colérica y son causantes de infecciones intestinales y extra intestinales moderadas (Chowdhury et al., 2016) *V. cholerae* (no-O1/ no-O139) produce gastroenteritis y además, se han reportado casos de infecciones en heridas y oído, y bacteriemia primaria (Deshayes S et al., 2015) Asimismo, esta bacteria se ha identificado en infecciones de las vías urinarias y de la vía biliar, neumonía y peritonitis (Chen YT et al., 2015; Deshayes S et al., 2015). La virulencia está dada por los genes tcpA, rtx, msh, nanH y hlyA, relacionados con mayor capacidad infectiva y de colonización; igualmente otros en la supervivencia en el medio ambiente (Chakraborty et al., 2000; Chowdhury et al., 2016; Hasan et al., 2013).

5.2.3.4 *V. alginolyticus*.

Habitan en ambientes marinos, del género *Vibrio* son la más halófilas, se encuentran extensamente distribuidas a nivel mundial donde su prevalencia ha ido aumentando (Mustapha y Nozha., 2013). Su fisiología no es clara, por lo que es asociada a diferentes tipos de enfermedades relacionadas a; infecciones de otitis, heridas, conjuntivitis, cuadros gastrointestinales y otras infecciones extraintestinales (Zavala, Quiñones, y Vázquez, 2005). Algunos autores mencionan que este tipo de género cuenta con agentes de virulencia que le confieren una capacidad patogénica como hemolisina, proteasa y cápsula entre otros. (Hernández et al., 2016).

5.2.3.5 *V. parahaemolyticus*.

Especie aislada en caso de gastroenteritis causada por *Vibrio* spp., se transmite por el consumo de alimentos de origen marino contaminados (mariscos crudos) Se han reportado casos en algunos países, el aumento de la incidencia de *V. parahaemolyticus*, asociado por a cambios climáticos y factores ambientales (Newton et al., 2014). Por otro lado, se plantea el descubrimiento de nuevos serotipos con un potencial pandémico, dicha clasificación está

basada en el antígeno O y el antígeno K, resultando alguno de ellos más patógenos para el hombre (Chowdhury *et al.*, 2000).

5.2.3.6 *V. fluvialis*

Está distribuido en estuarios y ambientes marinos, debido a consideraciones patogénicas está cobrando mayor importancia clínica (Igbinosa y Okoh, 2010). Cuenta con diferentes mecanismos de virulencia que le permite ser un patógeno para el hombre, específicamente en casos de gastroenteritis (Ramamurthy, Chowdhury, Pazhani y Shinoda, 2014), sin embargo, en la actualidad no se ha aclarado completamente su papel en la fisiopatogenia.

5.2.3.7 *V. vulnificus*

Por sus características, es común en ecosistemas marinos y estuarinos, se transmite por el consumo, contacto de agua marina y consumo de mariscos contaminados (Horseman y Surani, 2011; Chen *et al.*, 2003). Las infecciones por lo general presentan un espectro de manifestaciones clínicas (gastroenteritis e infecciones de piel y tejidos) (Kurdi *et al.*, 2014).

5.2.3.8 *V. mimicus*

Vibrio mimicus es de hábitat acuático, por lo general es aislado de costas, ríos estuarios y ríos de zonas cálidas, forma parte del microbiota del zooplancton, en moluscos y crustáceos que se alimentan por medio de filtración (Vieira, 2001). Puede tolerar concentraciones de NaCl a partir del 6 % y es un contaminante importante en productos de pesca y en agua. Ocasiona náuseas, diarrea, dolores abdominales y vómito (González *et al.*, 2005).

5.2.4 Marcadores enzimáticos de patogenicidad de *Vibrio* spp

La patogenicidad está medida por la presencia de genes de virulencia que son codificantes de diferentes marcadores fenotípicos virulentos, estos actúan conjuntamente para facilitar la patogenia y colonización de estos (Fernández y Alonso, 2009).

5.2.4.1 Hemolisinas

Son exotoxinas las cuales actúan sobre la membrana (glóbulos rojos) generando lisis en la célula, algunas hemolisinas forman poros en la membrana plasmática de los eritrocitos, por la cual la hemoglobina (iones) se liberan. (Prescott *et al.*, 2002). Las hemolisinas son las toxinas que se presentan con mayor frecuencia entre las especies patógenas del género *Vibrio*, la expresión de estas hemolisinas en algunas especies de *Vibrio* se regula por las condiciones de accesibilidad de hierro dentro del huésped, por lo que durante su infección y en algunos casos, la acción hemolítica no solo es limitada a los eritrocitos, por lo contrario, afecta a varios tipos de células como mastocitos, células polinucleares y neutrófilos (Fernández *et al.*, 2009).

5.2.4.2 Proteasa

Son enzimas proteolíticas o peptidasas, cumplen el papel de catalizar la hidrólisis de enlaces peptídicos de varias proteínas, generando como resultado la formación de péptidos o algunos aminoácidos (libres), por su especificidad por altos sustratos, dan lugar a la división selectiva de proteínas. (Gupta *et al.*, 2002; Sabotic y Kos,2012; Kamal *et al.*, 2017). Las bacterias del género *Vibrio* son capaces de producir enzimas proteasas, con el fin de obtener nutrientes por medio de la digestión de diferentes sustratos proteicos. (Miyoshi, 2013).

5.2.4.3 DNasa

Endonucleasa extracelular, la cual es específica para la degradación de DNA (ácido desoxirribonucleico), en algunos casos las DNasas bacterianas requieren cationes (divalentes), en su mayoría son proporcionado por peptonas, en el medio de crecimiento, los límites de pH para que la enzima tenga actividad dependerán de qué tan ácido, alcalino o neutro es, 5,5, 8,5 y el óptimo 7,2. (Harper, 1997; Bernheimer, 1951; Kozloff 1953). Las DNasa se encuentran en extractos de diversos microorganismos, sin embargo, este tipo de enzimas se reportan en muy pocas especies, como estreptococos del grupo A (Wannamaker, 1964),

especies de *Bacillus* (Jeffries, 1957) y especies de *Vibrio* (Marsik *et al.*, 1982), entre otros géneros.

5.2.4.4 Gelatinasa

Algunas bacterias son productoras de enzimas extracelulares, las cuales hidrolizan la gelatina, por un proceso conocido como gelatinosis. Estas son enzimas proteolíticas que son consideradas factores de patogenicidad en los microorganismos que las presentan. La gelatina, se encuentra compuesta de polipéptidos de alto peso molecular, los cuales son derivados del colágeno y sigue siendo material vulnerable al ataque de microorganismos en condiciones ambientales favorables. (González *et al.*, 2010).

5.2.4.5 Lecitinasa

Se clasifican como fosfoglicéridos, son grupos los cuales contienen, glicerol, colina, ácidos grasos y ácido fosfórico (Holum, 1975).

5.2.4.6 Otros factores de virulencia

5.2.4.7 Quórum sensing

Es un sistema encargado de regular la expresión genética, como respuesta a fluctuaciones de la densidad poblacional, es decir, es un sistema de comunicación que usan las bacterias, para la regulación de actividades fisiológicas (virulencia, movilidad, formación de biofilm), las moléculas señal en Quórum sensing son llamadas auto inductores (producidas y secretadas al medio celular por las bacterias), cuando la densidad bacteriana aumenta, la concentración de las moléculas señal también aumenta, hasta alcanzar un nivel de umbral, la señal será percibida por la bacteria y transmitida al interior de esta, de este modo la bacteria sabrá cuándo atacar a su huésped. (Miller *et al* 2001).

Por ejemplo, *V. cholerae*, *V. harveyi*, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus*, son regulados por este tipo de sistema, en el caso de *V. mimicus*, los mecanismos de regulación los cuales

involucran la expresión de factores de virulencia no han sido del todo estudiados. (Sultan *et al.*,2006).

5.2.4.8 Pili

Pili se da por la colonización de la superficie de la mucosa, depende de la producción de cierta cantidad de apéndices filamentosos, localizados en la superficie de la bacteria patógena, se encarga de regular la adherencia de la bacteria (receptores específicos del huésped). (Taylor *et al.*, 1987).

5.2.4.9 Apropiamiento de hierro

Para que la bacteria, logre general la infección esta debe contar con la capacidad de adquirir el hierro de su huésped, por lo que el hierro es el principal nutriente indispensable para su desarrollo óptimo, la forma de obtener el hierro lo hace mediante la presencia de sideróforos, son agentes quelantes los cuales actúan bajo escasas condiciones de hierro, tienen la capacidad de solubilización de hierro a partir de complejos minerales. (Saha *et al.*, 2012).

5.2.5 Técnicas de identificación del género *Vibrio*.

5.2.5.1 Filtración por membranas

El método de filtración por membrana (MF) consiste en pasar muestras de agua problema por medio de un filtro de membrana (microspora), donde en su superficie quedarán retenidos los microorganismos (Milliore,2005).

Recientemente se han estado usando membranas Sartorius tipo AC con un diámetro de poro (0.45 μm) cada membrana cumple con las especificaciones referenciadas en los métodos estándar por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (Sartorius,2003). La membrana se incuba sobre un medio de cultivo que cuente con las condiciones adecuadas, para luego realizar un conteo directo de las colonias sobre la superficie de la membrana (Milliore,2005).

5.2.5.2 Preenriquecimiento con agua peptonada alcalina y cloruro de sodio

El agua peptonada alcalina (APA), es fundamental para el crecimiento de *Vibrio*, en donde la peptona brindará los nutrientes requeridos para el desarrollo de las bacterias, principalmente aminoácidos de cadena corta y nitrógeno, mientras que el cloruro de sodio (NaCl) mantiene un equilibrio osmótico, el crecimiento bacteriano se observa una vez el tubo se encuentre con turbidez (Gil, 2019).

5.2.5.3 Medios de cultivo

5.2.5.3.1 Medio de cultivo Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (T.C.B.S)

Medio selectivo, nutritivo y para cultivo de *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y otras especies a partir de muestras de alimento y agua. El extracto de levadura, la tripteína y la peptona de carne son los nutrientes necesarios para el desarrollo de microorganismos, la bilis de buey, el citrato de sodio y el pH alcalino impiden el desarrollo de la flora acompañante, favoreciendo de este modo el crecimiento de *Vibrio spp*, el cloruro de sodio y su alta concentración mantienen el balance osmótico y una alta selectividad del medio. La sacarosa es la fuente de carbono fermentable, el azul de bromotimol y el azul de timol son los indicadores de pH, los microorganismos fermentadores de sacarosa presentarán colonias amarillas y los no fermentadores colonias del color del medio, con centro verde. (Massey *et al*, 2019).

5.2.5.3.2 Medio nutritivo NaCl 0,5 %

Medio con usos generales, para aislamiento y recuento de microorganismos, su uso está detallado en procesos para el análisis de alimentos y agua entre otros materiales de importancia sanitaria. Este medio no es selectivo, su fuente de carbono es el extracto de carne y la pluripeptona, aportando los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. Por otro lado, se le adiciona al medio NaCl

(0,5 %), con el fin de que crezca el microorganismo de interés, los medios con estas características pueden ser suplementados para favorecer el crecimiento de microorganismos exigentes. (Franco *et al.*, 2021).

5.2.5.4. Identificación por pruebas presuntivas del género *Vibrio*

5.2.5.4.1. Prueba de la Oxidasa

Según el documento de Procedimientos en microbiología clínica por Sánchez *et al* (2006). La reacción en cadena de la oxidada está dada por enzimas oxidasas y se debe a la presencia del citocromo oxidasa la cual activa la oxidación del citocromo el cual es reducido por el oxígeno molecular produciendo agua o en su defecto peróxido de hidrógeno según la especie, es decir, si el reactivo de la oxidasa es catalizado por la bacteria, este se tornará de color purpura.

5.2.5.4.2. Prueba de la cuerda

Es una de las pruebas presuntivas, para sospechar de la presencia de *Vibrio*, ya que todos sus biotipos dan como resultado positivo, algunos resultados pueden dar una reacción débil a la prueba de la cuerda, la prueba se realiza a partir de un cultivo nutritivo (no selectivo), con un portaobjetos se emulsiona una colonia con un a gota pequeña de desoxicolato de sodio al 0,5 %, luego de 60 segundos las células se lisan y ADN forma una especie de hilo translúcido cuando se levanta con el asa. (Chepe *et al.*, 2018)

5.2.5.4.3. Tinción de Gram

La tinción de Gram es una técnica de gran relevancia en el análisis microbiológico. Se establece como una técnica de tinción diferencial ya que mediante la utilización de colorantes permite la agrupación de bacterias en dos grandes grupos: Gram positivas y Gram negativas. Esta técnica fue desarrollada en 1884 por el científico danés Hans Christian Gram y en la

actualidad es considerada una de las tinciones más utilizadas debido a su eficiencia, sencillez y bajo costo (Beveridge, 2001).

5.2.5.5. Identificación por Pruebas automatizadas específicas

5.2.5.5.1 Microscan Walkaway

Se usa como principal herramienta de microplacas que cuenta con 96 pocillos, independientes para la identificación y las pruebas de sensibilidad, realizando la lectura por turbidimetría, colorimetría y fluorimetría. Emplea alrededor de 32 sustratos reactivos y varias diluciones de antibióticos. Requiere más reactivos adicionales, aunque por lo general puede incorporarse automáticamente, la lectura se realiza a las 2-18 horas, esto dependerá de las bacterias y el sistema de paneles (Peradotto *et al.*, 2022).

5.2.5.5.2. MALDI-TOF

Es una técnica usada para identificar microorganismos, basado en el perfil de las proteínas, principalmente ribosómicas, los microorganismos presenta una serie de características en el espectro, lo que permite la creación de bases de datos con los espectros de masas que presentan los distintos microorganismos, una vez se obtiene el espectro de un microorganismo es comparado automáticamente en la base de datos, emitiendo un resultado junto a un puntaje, por medio de este sistema se obtienen resultados rápidos en cuanto a la identificación de bacterias a partir de colonias aisladas. (Reloso *et al.*, 2015).

5.2.6. Técnicas de determinación de marcadores fenotípicos de patogenicidad del género *Vibrio*.

5.2.6.1. Agar leche

En este medio de cultivo se usa para identificar la actividad proteolítica de los microorganismos. Se observará zonas claras de lisis alrededor de las colonias con un halo de hidrólisis (3mm) (Otiniano *et al.*, 2021).

5.2.6.2. Agar DNA

Para este medio de cultivo se requiere ácido clorhídrico (HCL) al 0,1 N, se adiciona sobre la línea de crecimiento y se deja actuar por unos minutos, se observará precipitación de DNA con producción de un color lechoso, si la colonia presenta un halo transparente, será resultado de la producción de DNAsa, en algunos medios que contienen verde de metileno, el halo será de color rosado alrededor de la colonia indicando producción de Dnasa. (Villafañe, 2018).

5.2.6.3. Agar Gelatinasa

Al momento de tener crecimiento en la cepa, se le añadirá el reactivo (precipitante de proteínas) cloruro mercuríco acido, el precipitado blanco indica la presencia de gelatina, la cual no está hidrolizada; la ausencia del precipitado en la zona donde se realizó la estría (con crecimiento microbiano) indica la hidrólisis de gelatina. (Macfaddin, 2003).

5.2.6.4. Agar lecitina

El agar lleva de huevo es el óptimo para observar los resultados en cuanto a la actividad de la enzima lecitinasa, la prueba consiste en la observación de una zona opaca (alrededor del crecimiento microbiano), siendo para este caso positivo como resultado de la hidrólisis de la enzima lecitina en yema de huevo. (Boiko AV, 2000).

5.2.6.5. Agar base sangre

Es una excelente base nutricional la cual permite el crecimiento de casi cualquier microorganismo, al añadirle la sangre, permitirá ver los diferentes tipos de hemólisis, ya que la mayoría de los microorganismos lisan los glóbulos rojos y obtienen algunos nutrientes como el hierro (Sauñe y Ramirez, 2021). Para identificar la presencia de hemólisis de un microorganismo se sabe mediante la clasificación de beta hemólisis, siendo un tipo de hemólisis completa, alfa hemólisis, siendo un tipo de hemólisis incompleta y gamma hemólisis, sin ningún tipo de actividad hemolítica en el medio. (Ballesteros *et al.*, 2018)

5.3. Marco legal

El ministerio de salud pública (MPS), según el decreto 415 de 1998, define en el Artículo 1, “agua cruda es aquella que no ha sido sometida a procesos de tratamiento “El ministerio de la protección social, ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial, por medio de la resolución 2115 del 2007 señalan, características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. Por lo que el análisis de laboratorio en muestras de agua para consumo humano, para detectar *Vibrio spp* se debe realizar de acuerdo con lo dispuesto en el párrafo del artículo 22 de la resolución 2115 2007 y resolución 4716 de 2010. Finalmente, para mejorar la calidad del agua, se debe seguir las buenas prácticas sanitarias (BPS), descritas en la resolución 082 del 2009. Además, el decreto 1898 del 2016 "Decreto Único Reglamentario del Sector Vivienda, Ciudad y Territorio" establecen: Esquemas diferenciales para la prestación de los servicios de acueducto, alcantarillado y aseo.

6. METODOLOGÍA

6.1 Tipo de estudio y línea de investigación

Tipo de Investigación: Descriptivo, transversal

Línea de investigación: Epidemiología y enfermedades infecciosas del Programa de Microbiología

Este proyecto fue financiado por una convocatoria interna mediante el convenio 097 del 19 de diciembre de 2022.

6.2 Universo y población.

Como se observa en la *Figura 1*, la investigación fue realizada en el caribe colombiano, en el departamento de La Guajira, Municipio de Uribia, ubicado entre 11° 54' 52" latitud norte y 71° 59' 57" al oeste, con una temperatura de 34°C (bosque tropical). Presentan estaciones de lluvia y sequía. (Alcaldía de Uribia, 2022) La mayoría de sus habitantes hacen parte del pueblo Wayuu y actualmente no se cuenta con una cifra de jagüeyes distribuidos en el municipio.

Figura 1. Mapa de las ubicaciones de los jagüeyes muestreados en Uribia, La Guajira



*El gráfico evidencia la ubicación de los jagüeyes muestreados, Urruracha, Kalinapion, Talaaulamana, Corintios, Coropontain y Kalinapion B. Fuente: Caicedo & Lechuga, 2023

6.3 Diseño metodológico.

El diseño metodológico se dividió en 3 fases:

- Inicialmente se llevó a cabo una entrevista sobre el uso del jagüey en la comunidad; seguidamente se tomaron las muestras (con previa autorización del líder de la comunidad) y fueron transportadas al Laboratorio de Investigación CINBIOS del programa de Microbiología de la Universidad Popular del Cesar donde fueron procesadas y se realizaron métodos selectivos-diferenciales para la detección presuntiva de *Vibrio* spp.
- Para la identificación de las cepas microbianas, se llevó a cabo la detección por métodos automatizados mediante el equipo Microscan Walkaway 96 y técnicas moleculares por proteómica (MALDI-TOF).
- Se determinaron factores enzimáticos de virulencia (Hemolisina, proteasas, gelatinasas, lecitinasa) de las cepas aisladas

6.3.1. Entrevista para definir el uso de agua de los jagüeyes de las rancherías

Para el desarrollo de la investigación se aplicó un cuestionario que contenía preguntas como el uso del agua por parte de la comunidad wayuu que habitan las rancherías, se tuvo en cuenta, constitución familiar, condiciones de vivienda y saneamiento básico (*Ver anexo 2*)

6.3.2 Toma de muestra

Las muestras se recolectaron en jagüeyes de las rancherías Urruracha, Kalinapion, Corintios, Talaaulamana, Coropontain y Kalinapion B distribuidos en Uribia, La Guajira. Se tomaron 200 ml de agua por triplicado en diferentes lugares del jagüey. Escaño(a) Talud(b) Fondo(c) en cada jagüey. En cada sitio de muestreo, las botellas estériles de 200 ml (previamente rotuladas) fueron sumergidas hasta lograr llenar totalmente el frasco y fueron depositadas en una nevera con pilas de hielo (*Ver anexo 4*). Finalmente, fueron transportadas al laboratorio de investigación CINBIOS del programa de Microbiología de la Universidad Popular del Cesar donde fueron analizadas. La

toma, conservación y transporte de las muestras se ejecutó siguiendo lo establecido en Standard Methods, 23rd edition

6.3.3 Procesamiento de muestras de agua

Para el desarrollo de la metodología se ejecutó lo descrito en la ISO 8914 y el procedimiento de Hara-Kudo et al., 2001 con algunas modificaciones. Se filtraron 100 ml de agua mediante el equipo de filtración de membrana y un filtro de membrana de 0.45 µm. Seguidamente se realizó un pre-enriquecimiento de las membranas filtradas, en 40 ml de agua peptonada alcalina (APA) que tenían un pH de 7,6 y 8,6 respectivamente, además de un porcentaje de NaCl de 0,5 % y 2 %. Es decir, cada punto tuvo cuatro condiciones diferentes de incubación. (Ver anexo 7) Los frascos se incubaron por 8 horas a 37°C (ISO 8914; Hara-Kudo et al., 2001; Chunga, 2018)

6.3.4 Aislamiento en medio de cultivo selectivo y diferencial

6.3.4.1. Siembra en medio TCBS

Las técnicas de siembra se realizaron de acuerdo con lo descrito en el Manual analítico Bacteriológico Capítulo 9: *Vibrio* (Kaysner et al, 2004) y la guía de vigilancia y control de *Vibrio Cholerae* en Colombia (Instituto Nacional de salud, 2017). Luego del cumplimiento del tiempo de incubación se tomó una alícuota de los tubos con el asa y fueron sembrados por agotamiento; inmediatamente se incubó a 37°C por 24 horas, posteriormente se clasificaron las colonias por tamaño y color (amarillas) para realizar un nuevo repique en el medio de cultivo TCBS. (Ver anexo 9) (Kaysner et al, 2004; Instituto Nacional de salud, 2017)

Se llevó a cabo una evaluación de la selectividad del medio de cultivo, inoculado en el medio de cultivo con agar TCBS y TSA, una línea recta de las cepas *Bacillus* spp, *E.coli*, *K. pneumoniae* y *S.aureus* (Ver anexo 8).

6.3.4.2. Siembra en medio nutritivo

Se tomaron colonias aisladas que crecieron en el medio TCBS y fueron sembrados por técnica de agotamiento en un medio nutritivo con NaCl 0,5 %. Se incubaron a 37 °C por 24 horas .(Kaysner *et al*, 2004; Instituto Nacional de salud, 2017) (Ver anexo 10)

6.3.5. Pruebas presuntivas para el acercamiento al género *Vibrio*

Las colonias aisladas en el medio de cultivo nutritivo con NaCl fueron sometidas a pruebas presuntivas del género *Vibrio*.

Se realizaron tinciones de Gram, prueba de la oxidasa y prueba de desoxicolato de sodio (cuerda) seleccionando las cepas presuntivas de *Vibrio* spp. (Kaysner *et al.*, 2004; Instituto Nacional de salud, 2017)

6.3.6 Identificación por método automatizado específico y perfil de susceptibilidad y resistencia a antibióticos

Se llevó a cabo una identificación automatizada a las cepas presuntivas de *Vibrio* spp. mediante el equipo Microscan Walkaway 96 a partir de colonias aisladas Para el montaje se seleccionan de 3 a 5 colonias del cultivo, no mayor a 24 horas, se realizó una suspensión bacteriana a 0,5 McFarland (agua de inóculo) y a partir de esto se depositó 100 microlitros a un tubo con agua de pluronic para finalmente ser dispensado en el panel 72 (referencia correspondiente a bacilos Gram Negativos) donde se encontraban todos los sustratos requeridos para la identificación bioquímica y determinación de resistencia y susceptibilidad a antibióticos. (Ver anexo 13)

6.3.7 Identificación confirmatoria de las especies de *Vibrio*

Las especies de *Vibrio* identificadas por Microscan Walkaway fueron confirmadas por técnicas moleculares (espectrometría de masas MALDI-TOF).

6.3.8. Determinación de marcadores fenotípicos de patogenicidad de *Vibrio* spp

Para la determinación de los marcadores fenotípicos se siguieron los protocolos descritos por diferentes autores (Boico, McFaddin, Robinson y Brumfield). Inicialmente se llevó a cabo la

determinación de la enzima lecitinasa por medio del protocolo recomendado por Boico. Se inoculó realizando una línea en la superficie del medio agar lecitina e incubado por 48 horas a 37 °C, un halo transparente alrededor de la colonia mostró la presencia de esta enzima.

La determinación de la actividad de DNasa fue ejecutada según McFaddin. Consiste en la presencia de un halo transparente alrededor del inoculó en agar DNasa al agregar HCl al 1N, lo que confirmó la presencia de esta enzima. Para detectar la presencia de β -hemolisina, se siguió la técnica descrita por Robinson. Se tomó una asada del cultivo y se inoculó en agar triptona-soya suplementado con sangre de cordero al 5 %. Se incubó por 24 horas a 37 °C y la presencia de un halo transparente alrededor de la colonia indicó la presencia de esta enzima.

El estudio de la enzima gelatinasa se realizó por la técnica descrita por MacFaddin. Se inoculó por punteo en un tubo con medio agar gelatina y se incubó a 37 °C de 24 a 48 horas. La presencia de líquido indicó la producción de la enzima gelatinasa. Finalmente, la actividad proteolítica se ejecutó siguiendo lo planteado por Brumfield, consiste en la generación de una zona de aclaramiento visual que rodeaba la línea de inoculación en agar leche evidencia la presencia de la enzima proteasa.

6.4. Unidad de análisis

6.4.1. Técnica de obtención de información

Los datos fueron obtenidos del agua de jagüeyes usados por los habitantes de las rancherías de Uribia, La Guajira. Seguido de los equipos, instrumentos o herramientas descritas anteriormente para el desarrollo del proyecto y finalmente por medio de revisión bibliográfica de artículos científicos, tesis y libros relacionados con la investigación planteada.

6.4.2. Técnica de análisis de resultados

Para el análisis de los hallazgos se hizo uso de Microsoft Hardware para el desarrollo de gráficos y tablas.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

7.1 identificación de *Vibrio* spp

Se analizaron seis jagueyes logrando aislar un total de 27 cepas de *Vibrio* spp, los cuales estuvieron distribuidas de la siguiente manera: 5 en Urruracha, 11 en Kalinapion y 12 en Kalinapion B; mientras que Corintios, Talaaulamana y Coropontain no se logró aislar este género microbiano. Se observó una frecuencia total de aislamiento mayor en Kalinapion A y Kalinapion B con 42,9 y 39,3 %, respectivamente, seguida de Urruracha con 17,9 %. (Ver Tabla 1).

Tabla 1. Número de cepas y frecuencia total de aislamiento de bacterias del género *Vibrio* en las zonas de muestreo, Uribia, La Guajira

Zona de muestreo	N° de cepas aisladas	Frecuencia Total (%)
Urruracha	4	14,3
Kalinapion	11	39,3
Corintios	0	0,0
Talaaulamana	0	0,0
Coropontain	0	0,0
Kalinapion B	12	42,9
Total	27	100,0

Fuente: Caicedo & Lechuga, 2023

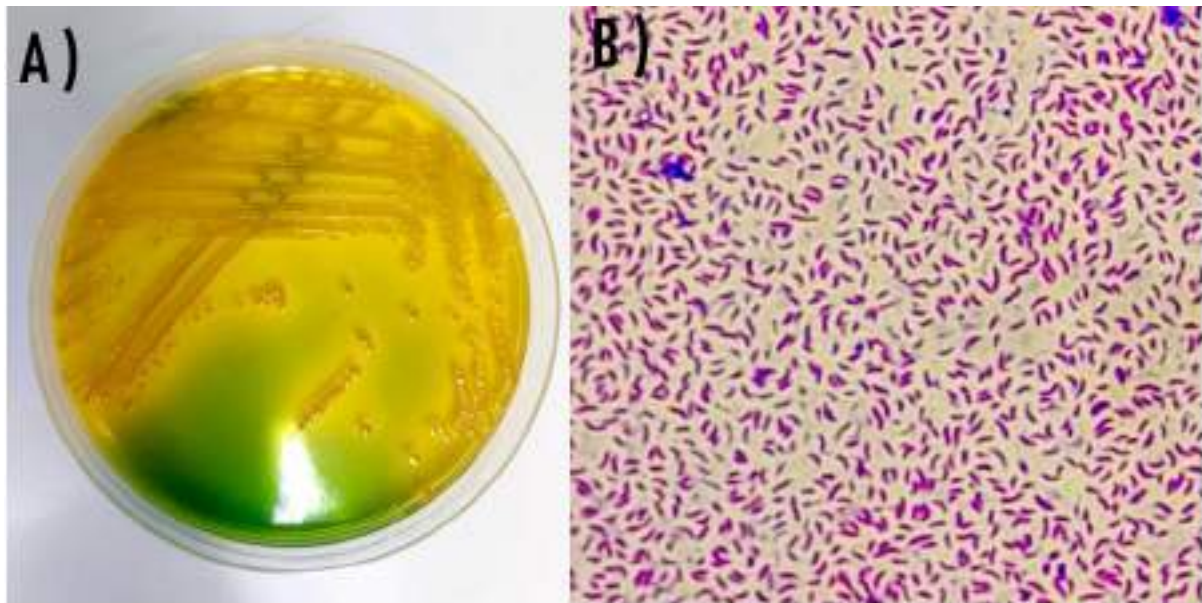
Las características bioquímicas permitieron la caracterización y diferenciación de las distintas colonias pigmentadas aisladas del agar TCBS. En todos los aislamientos obtenidos se observaron colonias amarillas y esto ocurre porque el medio de cultivo contiene sacarosa y existen especies de *Vibrio* capaces de fermentar este hidrato de carbono, por lo que el azul de bromotimol y timol (indicadores de pH) presentes en el medio, llevan a un viraje amarillo, que indica la fermentación de este azúcar; en caso de no fermentar la sacarosa, serán de

color verde claro y una pigmentación más oscura en el centro, indicando otra especie de *Vibrio*. (Gómez y Roque, 2006).

Dunmire *et al.*, (2022) estudio el crecimiento de *V.cholerae* en agar TCBS, enriqueciendo previamente en caldo nutritivo y NaCl al 1 y 1.5%, incubando durante un periodo de 6 a 8 horas, posteriormente se realizó la siembra por estrías en agar TCBS. Dunmire, explica que la morfología a observar son colonias amarillas debido a la fermentación de la sacarosa con un tamaño mínimo entre 2 a 4 mm, caracterizándose por ser redondas, lisas, brillantes y ligeramente aplanadas. Sin embargo, Arévalo., *et al* (2003) evaluó el crecimiento en dos medios de cultivo diferentes para *V. cholerae*, en agar MacConkey y TCBS, las colonias observadas en agar MacConkey fueron grandes traslucidas (lactosa negativa), de forma lisas, convexas, de consistencia cremosa y de bordes netos, mientras que, en agar TCBS colonias amarillas (fermentaron sacarosa) y las de color verde no fermentarían la sacarosa.

Las características de las colonias aisladas en este estudio coinciden con lo mencionado anteriormente, colonias ligeramente aplanadas, con centro opaco, periferia translúcida, redondas, lisas y brillantes (*Ver Figura 2*) (Arévalo, *et al.*, 2015; Dunmire *et al.*, 2022)

Figura 2. Cultivo en placa (24 h) y tinción de Gram de la cepa Urru 1 7,6 0,5 % NaCl en agar TCBS.



* A) Colonias típicas de color amarillo, redondo y brillante en una placa TCBS. B) Resultado de tinción Gram a la cepa mencionada, se observan bacilos curvados con reacción negativa a la tinción. Fuente: Caicedo & Lechuga, 2023

Macroscópicamente *Vibrio* spp puede ser confundido con otras especies halófilas cuando se observa en el medio de cultivo TCBS fermentando la sacarosa y siendo visualizada a simple vista con coloraciones tintoriales amarillas, la única diferencia es en cuanto al tamaño de la colonia; Dwivedi y Bagchi (2022) observaron crecimiento de *Aeromonas* y Enterobacterias con coloración amarilla en medio TCBS, sin embargo, resaltan que sus características macroscópicas difieren, en colonias pequeñas, redondas y con bordes lisos.

Otra forma de diferenciar *Vibrio* spp con el resto de los géneros bacterianos son las pruebas presuntivas, al realizar tinción Gram de las colonias en TSA al 0,5 % NaCl, en la figura 2, se observa el resultado de la tinción Gram, la cual presentó una morfología bacilar curvada y Gram negativas. Igualmente, se realizó prueba de la oxidasa a 30 cepas presuntivas para *Vibrio* spp de las cuales 28 resultaron positivas con una coloración lavanda que viro gradualmente a púrpura-negruczo intenso y se obtuvieron 2 cepas negativas, ya que las tirillas se tornaron amarillas o no presentaron algún cambio de color, es decir, no cuentan con presencia del citocromo oxidasa. (Ver anexo 11)

Galarza *et al.*, (2022) en su estudio buscó detectar *Vibrio* spp, realizando en una de sus pruebas presuntivas la prueba de la oxidasa para 306 cepas, dando en su totalidad oxidasa positivo. Estos investigadores no tuvieron en cuenta muestras como control negativo y positivo para evaluar el material usado que asegura, garantiza, y permite comparar dichos resultados. En la presente investigación se realizó dicha recomendación, usando la cepa *P.aeruginosa* (control positivo) y *E.coli* (control negativo), donde se observó el viraje mencionado anteriormente. Igualmente, investigadores como Seetharama *et al.*, (2023) en su estudio comparó diferentes géneros microbianos para prueba oxidasa, entre estos comparó a *V.cholerae*, *E.coli*, *S.aureus* y *K.pneumoniae*, los resultados obtenidos muestran a *V.cholerae* positivo y *E.coli*, *S.aureus*, , *K.pneumoniae* negativo.

Para finalizar con las pruebas presuntivas y confirmar este género bacteriano se realizó la prueba de la cuerda, actividad lítica del desoxicolato de sodio sobre la pared de las especies de *Vibrio* que favorece la liberación del DNA, que al tener contacto con el desoxicolato de sodio forma una suspensión adherente. Se realizó esta prueba a 28 cepas de las cuales 27 fueron positivas presentando una suspensión adherente o hilo mucoide. (Ver anexo 12)

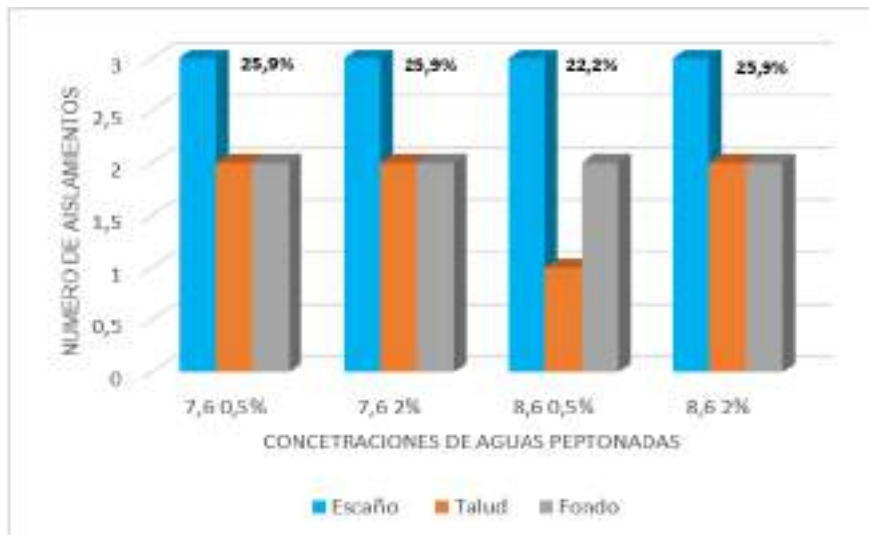
Pompa Ramos, I. J. (2022), en su estudio define la prueba de la cuerda como una de las principales o como prueba pilar para categorizar casi en un cien por ciento a cepas como *Vibrio* spp debido a la capacidad que tienen las colonias de producir una sustancia mucosa cuando se emulsiona con desoxicolato, reacción que solamente es observada en este género bacteriano halófilo.

7.2 Variación en concentración de pH y NaCl

Los 27 aislamientos de *Vibrio* spp obtenidos, se distribuyeron en las concentraciones planteadas de la siguiente manera: siete aislamientos en pH de 7,6 a 0,5 % de NaCl; 7,6 a 2 % y 8,6 a 2 %, respectivamente, seguidos de seis aislamientos en 8,6 a 0,5%. Por lo tanto, se puede decir que el porcentaje de recuperabilidad de *Vibrio* spp en las concentraciones 7,6

a 0,5 %; 7,6 a 2 % y 8,6 a 2 % es del 25,9 %, mientras que un 22,2 % en la concentración 8,6 a 0,5% (Ver Figura 3)

Figura 3. Distribución de *Vibrio spp* en diferentes condiciones de pH y porcentaje de NaCl



*Se observa la distribución porcentual de los aislamientos las diferentes condiciones de pH y porcentaje de NaCl. Fuente: Caicedo & Lechuga, 2023

En esta investigación se realizó la variación mencionada en el preenriquecimiento, con el fin de tener una mayor probabilidad de recuperar este género debido a que *Vibrio* contiene más de 34 especies que se adaptan a diferentes condiciones de salinidad y pH; siendo 12 patógenas para el hombre y de estas, 10 se consideran halófilas. Una particularidad que diferencia este género es su gran dependencia del ion sodio, incluso aquellas capaces de crecer en agua de peptona carente de sal. Este tipo de catión ayuda a estimular su crecimiento y favorecer la rapidez del mismo, el requerimiento de sodio es específico e independiente de una función osmótica. (Urakawa y Rivera (2006)

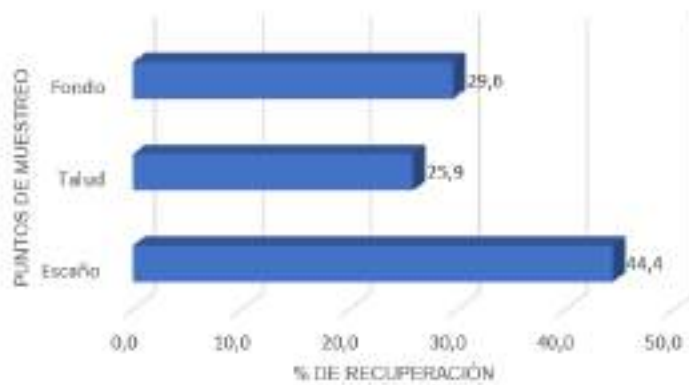
Las especies halófilas requieren para su crecimiento óptimo una concentración de NaCl no inferior al 1 %, aunque una concentración de 0,5 % permite el aislamiento. Urakawa y Rivera (2006), en su investigación observó que *Vibrio spp* cuenta con la capacidad de tolerar un amplio rango de salinidades y determinó que se recupera de gran manera en concentración

de NaCl de 2 a 2.5 %, sin embargo, algunas especies halófilas requieren al menos una concentración de 0,5 % de NaCl para crecer. Además, *Vibrio* spp se caracteriza por ser sensible a pH bajos y puede morir rápidamente en soluciones con un pH menor a 6, por este motivo, se realizó la variación de pH de 7,6 y 8,6, concentraciones que se consideran neutras y alcalinas, siendo este género bacteriano tolerante a condiciones alcalinas y un pH óptimo entre 7 y 10.2 (Gil,2005)

Del mismo modo, Rodríguez *et al.*, (2020), estudió la influencia del pH y la concentración de cloruro de sodio en el crecimiento de *Vibrio harveyi*, inicialmente se evaluó su pH y su luminiscencia en 2,3,5,6,8,9 y 10, se analizó seguidamente las concentraciones de NaCl ideales para su crecimiento tales como 0;1;2;3;3,5;4 y 5 % (p/v), en los resultados observaron que las cepas mostraron amplia tolerancia a valores de pH inicial entre 6 y 10. La influencia de NaCl en cuanto al crecimiento luego de 6 a 8 horas en concentraciones de 3 a 5 % demostraron un mayor incremento microbiano en el tiempo. Así mismo, en las demás concentraciones los investigadores observaron un crecimiento pobre en cuanto al tiempo.

Por otro lado, en la *Figura 4*, se observa que la zona del jagüey con mayor aislamiento fue el escaño con un 44,4 %, seguido del fondo 29,9 % y por último Talud con 25,9 %.

Figura 4. Distribución de *Vibrio spp* por puntos de muestreos de los jagüeyes



*Se muestra el porcentaje de recuperación en los tres puntos muestreados de los jagüeyes de las diferentes rancherías. Fuente: Caicedo & Lechuga, 2023

Las condiciones fisicoquímicas y nutrientes disponibles que puede tener el escaño, talud y fondo de estos cuerpos de aguas son vitales para el crecimiento de *Vibrio spp*, no obstante, es importante mencionar que no se existen estudios en Colombia que evidencien las características geológicas, sedimentológicas y químicas de estos cuerpos de aguas superficiales.

Hoz Zavala, *et al.*, (2003) estudiaron las características mencionadas anteriormente en un jagüey al noreste de México, el cual tenía una composición arena-arcillosa en el fondo, una delgada capa de sedimentos superficiales ácidos y el resto son sedimentos alcalinos, debido a la presencia de carbonato de calcio. Considerando que las características geográficas pueden ser similares a la de esta investigación, se puede correlacionar e inferir que dadas estas condiciones nutricionales se pueden encontrar microorganismos alcalófilos, acidófilos y neutrófilos en las diferentes partes muestreadas del jagüey.

En general, los jagüeyes analizados presentaron pH entre 7.0 y 8.0 (*Ver anexo 6*). siendo un pH óptimo de crecimiento. Del mismo modo, existen otros factores que no se determinaron en esta investigación como la salinidad, temperatura y densidad que puede tener el agua de estos jagüeyes. Se considera que es un hecho establecido que la salinidad y la temperatura

son factores ambientales importantes que influyen en *Vibrio* spp, al igual que la densidad, pero la literatura también ha demostrado que la correlación entre estos factores y *Vibrio* spp difiere según las diferentes ubicaciones geográficas y tipos de muestras (Colwell, 2016). Sin embargo, Jaiani *et al.*, (2013) y Jadelidze *et al.*, (2011) sugieren que la temperatura puede afectar la abundancia de *Vibrio* spp, mientras que la salinidad afecta la composición de especies de *Vibrio* en cualquier nicho ecológico.

7.3 Identificación y categorización bioquímica mediante Microscan Walkaway

Las 27 cepas presuntivas de *Vibrio* spp fueron identificadas mediante Microscan Walkaway, donde la totalidad de las cepas dieron un porcentaje de identificación de 99,9 % para la especie *V.cholerae*. (Ver anexo 14)

Este tipo de microorganismo se puede diferenciar categóricamente según su comportamiento bioquímico, reacciones enzimáticas o metabólicas, por lo que al usar esta técnica automatizada se obtuvo que todas las cepas fueron positivas a las pruebas oxidasa, utilización de la glucosa, sucrosa, producción de indol, ONPG, OF/G, colistina y nitrato; mientras que las pruebas de sorbitol, rafinosa, ramnosa, arabinosa, inositol, adonitol, melibiosa, urea, ácido sulfhídrico, triptófano desaminasa, malonato, cefalotina, Tobramicina, tartrato, acetamida, ceftrimida, resultaron negativas. Además, se presentó una reacción variable en las utilidades de ornitina, arginina, VP, citrato y una sola cepa realizó hidrólisis de la esculina. (Ver tabla 2)

Tabla 2. Pruebas bioquímicas diferenciales realizadas a las distintas cepas de *Vibrio* aisladas de jagüeyes mediante Microscan Walkaway

Código de muestra	Pruebas bioquímicas																				Especie identificada															
	GLU	SUC	SOR	RAF	RHA	ARA	INO	ADO	MEL	URE	H ₂ S	IND	LYS	ARG	ORN	TDA	ESC	VP	CIT	MAL		ONPG	CL4	CF8	TO4	TAR	ACE	CET	OF/G	P4	K4	NIT	FD64	OXI		
URRU1 7,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
URRU1 7,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
URRU1 8,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	<i>V.cholerae</i>
URRU1 8,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALI1 7,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALI1 7,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALI1 8,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALI1 8,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALI2 7,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALI2 7,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALI2 8,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALI3 7,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALI3 7,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALI3 8,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALI3 8,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB1 7,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB1 7,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB1 8,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB1 8,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB2 7,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB2 7,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB2 8,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB2 8,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB3 7,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB3 7,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB3 8,6-0,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>
KALIB3 8,6-2%	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	<i>V.cholerae</i>

(+): Positivo, (-): Negativo, GLU: Glucosa, SUC: Sucrosa, SOR: Sorbitol, RAF: Rafinosa, RHA: Ramnosa, ARA: Arabinosa, INO: Inositol, ADO: Adonitol, MEL: Melibiosa, URE: Urea, H₂S: Ácido sulfhídrico, IND: Indol, LYS: Lisina, ARG: Arginina, ORN: Ornitina, TDA: triptófano desaminasa, ESC: Esculina, VP: Voges Proskauer, CIT: Citrato, MAL: Malonato, ONPG: Prueba de beta-galactosidasa, CL4: Colistina, CF8: Cefalotina, TO4: Tobramicina, TAR: Tartrato, ACE: Acetamida, CET: Cetrimida, OF/G: Oxidación de la glucosa, P4: Penicilina G, K4: Kanamicina, NIT: Nitrato, FD64: Nitrofurantoina, OXI: Oxidasa Fuente: Caicedo & Lechuga, 2023

V. cholerae se puede encontrar de manera autóctona en ecosistemas acuáticos, como ríos, estuarios o ambientes marinos, donde se presentan condiciones favorables en aguas caracterizadas por niveles moderados de salinidad, alto contenido de nutrientes, temperaturas cálidas, pH neutro y ligeramente alcalino (Borroto, 1997). No obstante, este microorganismo patógeno se puede encontrar en ecosistemas de agua dulce, como es el

caso de esta investigación. Singleton, *et al*, (2008) en su estudio concluyeron que su presencia en ambientes acuáticos no se limita a estuarios, porque sus requerimientos de salinidad pueden ser satisfechos por una adecuada concentración de nutrientes en ambientes de agua dulce.

V. cholerae se caracteriza por ser un anaerobio facultativo, en presencia de oxígeno respira, y en su ausencia es capaz de fermentar, puede crecer en medios que contienen carbohidratos, particularmente glucosa, así como nitrógeno, azufre, fósforo y sodio.(Pompa,2022). De las numerosas pruebas bioquímicas que existen para identificar *Vibrio cholerae*, se consideran más significativas las siguientes: oxidasa, fermentación de glucosa sin producción de gas, fermentación de sacarosa, arginina dihidrolasa, lisina y ornitina descarboxilasa, crecimiento en NaCl al 0 % y 1 %, Voges Proskauer (CDC, 1994; INS, 2017). De acuerdo con lo planteado en los resultados, se presenta una alta concordancia en éstas y otras pruebas para la identificación de *V.cholerae*.

Bravo *et al.*, (2007), en su estudio de caracterización bioquímica de cepas de *V.cholerae* obtuvieron bacilos gramnegativos anaerobios facultativos, positivos a las pruebas de oxidasa, lisina y ornitina decarboxilasa; caso contrario de esta investigación donde la lisina no tuvo ninguna reacción y la ornitina una reacción variable; sin embargo, coinciden en el resultado negativo para la arginina dihidrolasa. Adicionalmente, al comparar estas investigaciones se encuentra una correlación en el comportamiento bioquímico debido a que todas las cepas fueron motiles, con producción de indol, D-galactosa positivo, uso de la sacarosa y el manitol, no así el inositol, la arabinosa, la esculina e hidrólisis de la urea. Al realizar la prueba de Voges-Proskauer y citrato de Simmons todas las cepas resultaron ser positivas; mientras que en esta investigación presentaron una reacción variable.

Igualmente, Majano *et al.*, (2009), estudió el comportamiento bioquímico de 89 cepas de *V.cholerae*, procedentes de 9 Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología pertenecientes al cepario del Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto Pedro Kourí

(IPK), al contrario de esta investigación donde se usó un método automatizado, estos autores usaron bioquímicas tradicionales donde las cepas en medio Kligler Hierro Agar oxidaron y fermentaron la glucosa, pero no la lactosa, no presentó producción de gas y ácido sulfhídrico, y en el medio agar-hierro-lisina se observó descarboxilación de la lisina y el 100 % de las cepas en estudio presentaron codificación genética para la enzima citocromo oxidasa.

MicroScan Walkaway es un sistema automatizado con una herramienta fotométrica que mediante paneles de microtitulación que contienen sustratos metabólicos secos y antibióticos permite determinar la actividad bioquímica y susceptibilidad de aislados bacterianos. Joshi y Albert (2009) en un reporte de caso utilizaron esta técnica y Api 20E como confirmación bioquímica y prueba definitiva para la identificación de esta especie. Del mismo modo, Antony et al (2022), usaron este sistema, identificando el microorganismo como *V. cholerae* con un 99,9 % de probabilidad.

Se han realizado diversos estudios en los que se evalúa y compara este método frente a otros disponibles en el comercio, Mai *et al.*, 2023 comparó la eficiencia del kit API y el equipo MicroScan WalkAway para la identificación de bacilos Gram negativos; la caracterización bioquímica en cuanto a género y especie alcanzó el 100 % mediante el sistema MicroScan WalkAway, mientras que, en el caso del kit API la tasa de identificación fue del 93,2 %. Igualmente, se tuvo en cuenta el tiempo y repetibilidad de las pruebas, donde microscan emite un resultado a 12,5 horas y el kit de API en 24 horas y por último en cuanto a la repetibilidad, se obtuvo un 100 % en ambos sistemas. Es decir, el sistema que logró mejores resultados fue MicroScan WalkAway

Por otro lado, Marco y cols. (2004) compararon Phoenix con Microscan WalkAway en la identificación de 191 bacilos gramnegativos utilizando API como sistema de referencia y observaron que ambos sistemas obtuvieron la misma identificación en el 96 % de las cepas, mientras que Phoenix identificó correctamente el 99 %. Resaltando una gran sensibilidad de Microscan WalkAway, aunque el sistema Phoenix obtuvo mejor porcentaje de identificación.

Sin embargo, Jin *et al.*, (2011) realizaron un estudio para comparar las precisiones de identificación de VITEK 2 (bioMérieux), MicroScan (Siemens Healthcare) y Phoenix (Becton Dickinson), donde la tasa de identificación de estos 3 sistemas fue alta o aceptable, pero el sistema Phoenix mostró un rendimiento significativamente mayor que VITEK 2 o MicroScan en la identificación.

7.4 Identificación proteómica mediante espectrofotometría de masas (MALDI-TOF)

Se realizó una identificación mediante MALDI-TOF, el cual se enfoca en la detección que ocurre en la relación masa-carga (m/z) de proteínas ribosómicas de la bacteria y esto ayuda a proporcionar un espectro de masas único del microorganismo en un corto tiempo (Carbonnelle *et al.*,2011). Los resultados de este análisis arrojaron un 99,9 % de confiabilidad para la identificación de seis cepas como *Vibrio cholerae*. En la siguientes graficas se observa el comportamiento de los espectros de masas:

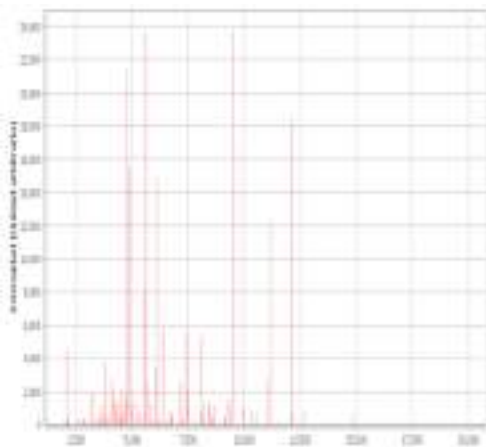


Figura 5. Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALIB3 8,6 2 %

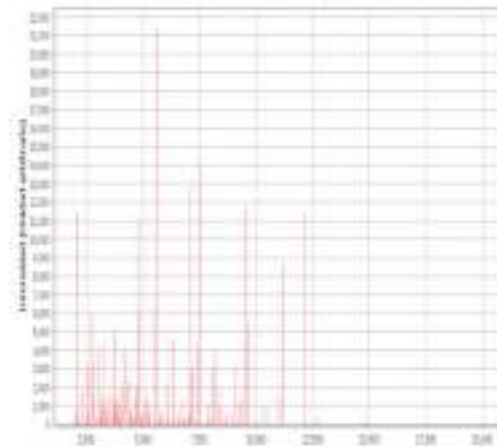


Figura 6. Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALIB3 8,6 0.5 %

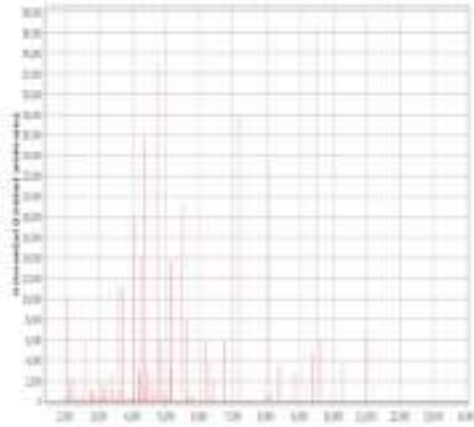


Figura 7. Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALIB2 8,6 2 %

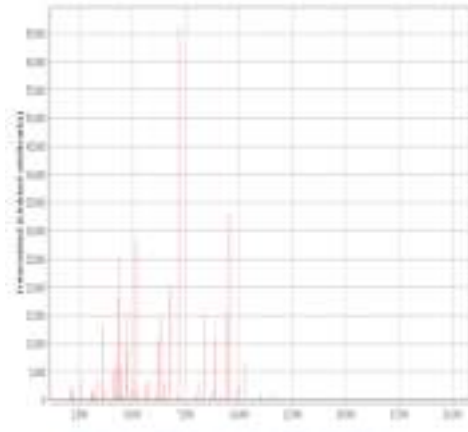


Figura 8. Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALI2 8,6 2 %

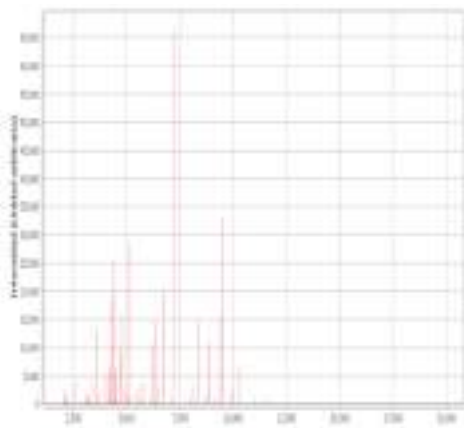


Figura 9. Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALIB1 7,6 2 %

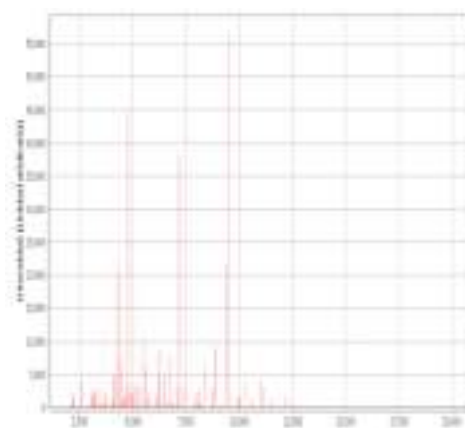


Figura 10. Espectro de masas MALDI-TOF de la muestra KALIB2 7,6 0,5%

Esta técnica no es considerada como identificación para picos de iones de biomarcadores en un espectro. Al contrario, se basa en el perfil de masa característico obtenido por un conjunto de picos de iones, que representa una huella digital (de la bacteria) (Dieckmann y Malorny, 2011). La identificación se proporciona comparando el espectro con los espectros de las cepas de referencia según la coincidencia más cercana (Popovic *et al.*, 2017). La técnica se recomienda ser usada para analizar diferentes tipos de moléculas orgánicas, como ácidos nucleicos, soluciones de moléculas orgánicas, células y proteínas completamente microbianas. No obstante, las proteínas y los microorganismos completos se utilizan más ampliamente para la aplicación de microbiología (Dekker y branda, 2011).

Los biomarcadores más fiables para la identificación de bacterias son las proteínas ribosómicas ya que favorecen una ionización eficiente, que incluye su abundancia e hidrofobicidad media (De Carolis *et al.*, 2014). Con el uso de esta técnica, se puede obtener una cantidad adecuada de señales de masa estables para los péptidos de proteínas ribosómicas, normalmente de 2000 a 20.000 Da. Las señales de masa se utilizan para producir espectros de perfil, que comprenden una serie de picos que se conservan a nivel de género y especie e incluso subespecie (Benagli *et al.*, 2012).

En cuanto a preparación de la muestra existen principalmente dos métodos para la preparación de muestras, tales como método de transferencia directa y los métodos de extracción de proteínas, el primer método es fácil y rápido, se basa en el uso de células bacterianas directamente de las placas de cultivo puro por medio de asas de inoculación estériles, este método es usado principalmente para la identificación, es decir, para un valor aproximado de 90-95% de las muestras. El método de extracción de proteínas se encarga de constituir la extracción de proteínas de células bacterianas utilizando solventes de diferentes tipos (Sedo *et al.*, 2011).

Sandalakis *et al.*, (2017). Estudió la eficiencia del sistema MALDI – TOF para identificar 56 cepas de *Vibrio* spp. La identificación de los aislados se verificó molecularmente mediante 16S (secuenciación de ARNr). Se comparó con diferentes bases de datos, relacionando la identificación con *V. cholerae*. (Cheng WC, 2015). Afanasev *et al.*, 2014, por medio de la prueba MALDI – TOF y el programa typer MALDI Biotyper 3.0 identificó *V. cholerae* y otros representantes de *Vibrio* que estaban relacionados con los grupos III-IV de patogenicidad (39 cepas en total), los resultados obtenidos eran coherentes con los datos de la bacteriología clásica, el método llevado a cabo fue por medio de extracción de proteínas cabe resaltar que solo se analizaron 16 de estas, las cepas restantes fueron analizadas por medio de pruebas API 20E, los resultados arrojados dieron un 99,9 % para *V.cholerae* serogrupo no O1/139.

Canellas *et al.*, 2020, identificó un total de 455 cepas que fueron sometidas a identificación por medio de la prueba MALDI-TOF, de las cuales 192 fueron identificadas como pertenecientes al género *Vibrio*, mediante esa metodología se identificaron 59 cepas como pertenecientes a otros géneros bacterianos. Sin embargo, 4 cepas sometidas a identificación tuvieron un puntaje de 0,000 y 1,699, esto quiere decir que no fueron adecuadamente identificadas, 137 fueron cepas clasificadas en bacilos gramnegativos y catalasa positivos. Entre las 192 cepas identificadas como pertenecientes al género *Vibrio*, 153 fueron identificadas con un puntaje de 1,700 y 1,999, indicando una probable identificación para el género, mientras que se identificaron 39 cepas con una puntuación entre 2,000 y 2,299 esto quiere decir una identificación segura y probable identificación para especie.

El número total de bacterias pertenecientes al género *Vibrio* fue relacionado con los puntos de recolección en la Bahía de Guanábana, así como sus puntajes de identificación, al comparar el número total de *Vibrio spp* (en muestras de superficie y fondo), observaron que las muestras del fondo fueron las que mostraron mayor tasa de bacterias pertenecientes al género *Vibrio*, de las especies identificadas fueron *V. agarivorans* *V. alginolyticus* *V. anguillarum* *V. brasiliensis* *V. chagasii* *V. cyclitrophicus* *V. fluvialis* *V. fortis* *V. gigantis* *V. harveyi* *V. ichthyenteri* *V. mediterranei* *V. navarrensis* *V. parahaemolyticus* *V. pelagius* *V. pomeroyi* *V. rotiferanius* *V. scophthalmi* *V. shilonii* *V. tasmaniensis*.

7.5. Patrón de susceptibilidad y resistencia de las cepas aisladas

En la *tabla 3* se observa el comportamiento de las pruebas de susceptibilidad de las 27 cepas de *V. cholerae* frente a las 16 drogas antimicrobianas investigadas, expresándose los resultados en categoría de interpretación de: sensible, intermedio y resistente según el Instituto de Estándares clínicos y de Laboratorio (CLSI) (*Ver anexo 17*) los aislados analizados fueron sensibles a once antibióticos del panel analizado: Ampicilina-sulbactam, Piperacilina, Cefepima, Cefotaxima, Cefoxitina, Meropenem, Amicacina, Gentamicina, Ciprofloxacina, Levofloxacina y Trimetoprim-sulfametoxazol

Tabla 3. Susceptibilidad a los antimicrobianos de las cepas de *V. cholerae*

Antimicrobianos	Susceptible		Intermedio		Resistente	
	No. de cepas	%	No. de cepas	%	No. de cepas	%
Ampicilina	22	81	0	0	5	19
Ampicilina-sulbactam	27	100	0	0	0	0
Piperacilina	27	100	0	0	0	0
Cefazolina	12	44	15	56	0	0
Cefepima	27	100	0	0	0	0
Cefotaxima	27	100	0	0	0	0
Cefoxitina	27	100	0	0	0	0
Ceftazidima	24	89	3	11	0	0
Imipenem	20	74	7	26	0	0
Meropenem	27	100	0	0	0	0
Amicacina	27	100	0	0	0	0
Gentamicina	27	100	0	0	0	0
Tetraciclina	23	85	0	0	4	15
Ciprofloxacina	27	100	0	0	0	0
Levofloxacina	27	100	0	0	0	0
Trimetoprim-sulfametoxazol	27	100	0	0	0	0

*Según M45 CLSI

Fuente: Caicedo & Lechuga, 2023

Del mismo modo, se encontraron 5 (19 %) cepas resistentes a la ampicilina y 22 (81 %) susceptibles, así mismo, 4 (15 %) cepas resistentes a tetraciclina y 23 (85 %) sensibles. Mientras que, algunas cepas presentaron una susceptibilidad intermedia: 15 (56 %) cefazolina, 3 (11 %) ceftazidima y 7 (26 %) cepas a imipenem respectivamente.

Considerando la importancia del género *Vibrio* como patógeno de humanos y animales, el estudio del perfil de resistencia y susceptibilidad es de mucha importancia dentro de la comunidad científica, debido a que existen factores que contribuyen a su rápida adaptación en cuanto al ambiente y la resistencia ante la presencia de antimicrobianos (Das *et al.*, 2019). Ahora bien, el estudio de los antimicrobianos recomendados para las infecciones causadas por *Vibrio spp*, son fundamentales por la plasticidad genética que presenta este género bacteriano.

Dentro de los antimicrobianos recomendados se encuentran los aminoglucósidos, betalactámicos, fluoroquinolonas, sulfonamidas y tetraciclinas, así también, como amoxicilina,

ácido clavulánico, trimetoprima y sulfametoxazol (Jang *et al.*, 2014; Ehlamdi, da Silva y Parveen, 2016; Baker-Austin *et al.*, 2018).

Antony *et al.*, (2022) Sometió por medio de un sistema de identificación automatizado (Microscan Walkaway), cepas presuntivas de *V. cholerae* O39, el organismo se identificó con un 99,9 % de probabilidad. Dentro de los resultados se determinó que era susceptible a ampicilina, cefalosporina, fluoroquinolonas, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, cloranfenicol, tetraciclina y trimetoprima. Además, se encontró que la infección que causa el microorganismo identificado era susceptible a la ampicilina, cefalosporina, cotrimoxazol y fluoroquinolonas (fármacos anteriormente mencionados) (Huhulescu S *et al.*, 2007).

Generalmente, *Vibrio spp* tiende a ser sensible a la mayoría de los antimicrobianos (Shaw *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2018) estos microorganismos son sensibles a los aminoglucósidos, el cloranfenicol, el ácido nalidíxico y las fluoroquinolonas, pero se comportan como resistentes a la ampicilina y la sensibilidad a Trimetoprim–sulfametoxazol y a la tetraciclina es variable.(OMS, 2004). Sin embargo, algunos estudios informan sobre altas tasas de resistencia al amino y carboxipenicilinas por especies como *V. parahaemolyticus* y *V. cholerae*, en este orden de ideas, se estima que desde el año 1999, las tasas de resistencia a la ampicilina en *V. cholerae* han variado del 75 al 100 % (Chatterjee *et al.*, 2020).

Bier *et al.*, (2015) llevaron a cabo un estudio en 184 cepas de *V. cholerae* no O1/no O139 de origen clínico y ambiental (agua y peces), y mostró que 11 eran resistentes a la ampicilina, pero todas eran sensibles a los demás antibióticos betalactámicos probados, a excepción de cuatro cepas resistentes a carbapenémicos. Igualmente, Fernández *et al.*, (2007), aisló 144 cepas y al analizar el perfil antimicrobiano, encontró que el total de los aislamientos fueron resistentes a Trimetoprim-sulfametoxazol; caso contrario de esta investigación , donde el 100 % de las cepas fueron susceptibles. Además, el 98,7 % lo fue a la sulfonamida y el 90,3 % a la ampicilina, mientras que, los resultados de este estudio evidencian solamente que el 19 % fue resistente a la ampicilina.

Este tipo de fenómeno se encuentra asociado a la presencia de genes que codifican beta-lactamasa en los cromosomas de *Vibrio spp*, como es el caso de blaCARB-6, blaCARB-7 y blaCARB-9 encontrados en cepas de *V. cholerae* distintas de O1 y no O139 (Devi *et al.*, 2009; Jiang *et al.*, 2014; Chiou, Li y Chen, 2015; Lee *et al.*, 2018, Zago *et al.*, 2020b). Cabe resaltar que lo mencionado anteriormente, no se encuentra en una isla genómica o cerca de integrones, los cuales sugieren que la resistencia a las penicilinas es intrínseca en este tipo de bacterias (Chiou, Li y Chen, 2015).

Por otro lado, Baker-Austin *et al.*, (2018) resalta que las tetraciclinas son una clase de antimicrobianos de uso frecuente, en el tratamiento de infecciones por *Vibrio*, especialmente doxiciclina y tetraciclina. Este tipo de sustancias actúan inhibiendo la síntesis de proteínas bacterianas y algunos de los mecanismos de resistencia más frecuente incluyen en la expresión del flujo, protección ribosómica y alteración del objetivo antimicrobiano (Sheykhsaran *et al.*, 2019).

En este estudio se demostró que las tetraciclinas presentan un mayor porcentaje de sensibilidad. Análisis similar publican Bravo *et al* (2007) en Cuba en un período de 10 años (1996 -2005) donde 98 % de los aislamientos de *V. cholerae* no-O1, no-139 son sensibles. Igualmente, investigaciones en Irán en el año 2014 obtienen 100 % de sensibilidad a este medicamento (Bakhshi, 2014), sin embargo, en este estudio se obtuvo un 85 % de sensibilidad a este antimicrobiano.

Igualmente, la investigación realizada por Steenland *et al.*, (2013) evaluó la susceptibilidad a ampicilina y tetraciclina de 1029 cepas de *V. cholerae* O1 recolectadas en 18 ciudades de Haití entre abril de 2012 y marzo de 2013, las cepas de *V. cholerae* analizadas mostraron una susceptibilidad del 100 % a la ampicilina y a la tetraciclina. mientras que una fracción de nuestros aislados de *V. cholerae* fue resistente a ampicilina y tetraciclina (19,0 y 15,0 % respectivamente).

Con respecto a cefalosporinas de tercera generación, como cefazolina y ceftazidima en algunos tratamientos causados por bacterias gramnegativas resistentes a primera y segunda generación de cefalosporinas, las antes mencionadas son usadas frecuentemente para el tratamiento de infecciones producidas por *Vibrio spp*, a pesar de que investigaciones recientes indican altas tasas de resistencia a estos antibióticos (Baker-Austin, 2018, Bui y Preuss, 2020; Zago *et al.*, 2020a, 2020b).

En el caso del antimicrobiano cefazolina, se han realizado estudios donde se evalúa su eficiencia en cepas de origen ambiental y clínico, Jun *et al.*, (2019), demuestra que el 68,7 % de las cepas analizadas (del río Zhejiang) son resistentes a este antibiótico. Sin embargo, Tovar *et al* (2006), obtiene cepas con susceptibilidad del 78,18 % y 13,33 % de susceptibilidad intermedia. Del mismo modo, mencionan que obtuvieron 98,88 % de susceptibilidad y 1,11 % resistentes a ceftazidima. No obstante, en esta investigación se obtuvo un porcentaje mayor de susceptibilidad intermedia (56 %) a cefazolina y 11 % de susceptibilidad intermedia a ceftazidima.

Nateghizad *et al.*, (2023) en una revisión sistemática afirman que *V. cholerae* es más resistente a cefalosporinas de segunda generación, donde se incluye a ceftazidima (5 %), Cefixima (37 %) y cefotaxima (15 %), lo mismo ocurre en la investigación realizada por Haque *et al.*, (2023) donde ceftazidima presenta un 25,7 % de resistencia. Los hallazgos obtenidos en esta y las investigaciones mencionadas anteriormente son análogos a las realizadas por Jun *et al.*, (2012) y Letchumanan *et al.*, (2015) donde la totalidad de sus cepas fueron sensibles a este antimicrobiano.

Por otra parte, algunos carbapenémicos como imipenem, se utilizan generalmente como última opción en tratamientos de infecciones bacterianas, este tipo de subclase hoy en día suele ser un fenómeno muy preocupante, dado que este fenotipo generalmente implica resistencia a la mayoría de los demás antimicrobianos disponibles (Nordmann, 2011; Lu *et*

al., 2014; Bier *et al.*, 2015; Zago *et al.*, 2020a). Aunque Nateghizad *et al* (2023) en la revisión sistemática realizada muestra un 0% en la prevalencia de resistencia, sin embargo, otros estudios experimentales realizados, señalan que puede llegar a tener un 3,9 % y 27, 83 % de resistencia frente a cepas evaluadas. (Huque *et al.*, 2023; Henghui 2023)

Existen mecanismos de acción de los betalactámicos que se encargan de inhibir la síntesis de peptidoglicano, el cual es un componente esencial de la pared celular bacteriana.(Pandey y Cascella, 2020). El género *Vibrio*, puede contar con la presencia de genes resistentes como blaTEM, blaCTX y blaNDM-1, así como la expresión de bombas de flujo y ya descrita producción de betalactamasas y carbapenemasas de espectro extendido. (Chowdhury, 2016; Das *et al.*, 2019). Yen *et al.*, (2020) resalta la presencia de genes de resistencia a betalactámicos en *Vibrio spp*. La cual se ha asociado con la presencia de integrones y elementos genéticos móviles, nuevamente destacando el importante papel de la transferencia horizontal de genes para la adquisición y difusión de los determinantes de la resistencia, no sólo en el contexto clínico, sino también en el contexto ambiental.

Por otro lado, los genes que confieren resistencia a las quinolonas se encuentran en los cromosomas de varias especies de la familia *Vibrionaceae*, sin embargo, la resistencia a estos antimicrobianos también puede ser mediado por plásmidos, los cuales contribuyen a su diseminación en el medio ambiente (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2016). En otro aspecto, la resistencia también puede ocurrir a través de mutaciones puntuales. en los genes *gyrA*, *gyrB*, *parE* y *parC*, que codifican las enzimas diana de antimicrobiano (Das *et al.*, 2019; Zhou *et al.*,2019). Han *et al.*, 2015; Faja *et al.*, 2019, informa que, en algunas cepas de *Vibrio*, ya se ha identificado la presencia de genes de resistencia a la tetraciclina *tetA*, *tetB* y también se ha asociado con la presencia de plásmidos.

7.6 Determinación de factores de virulencia enzimáticos

El análisis para hemolisina en el agar sangre evidenció un halo o zona clara alrededor de la colonia, lo que indica que los eritrocitos se han lisado totalmente, es decir, se observa una Beta hemólisis en las cepas. La licuefacción de la gelatina realizada en tubo reflejó el paso del medio sólido a líquido; la presencia de las Dnasa se observó por el aclaramiento alrededor de la colonia al agregar HCl 1N; mientras que lecitina y proteasa mostraron un halo blanco o aclaramiento en el medio. (Ver figura 11)

Figura 11. Reacciones enzimáticas presentes en las cepas

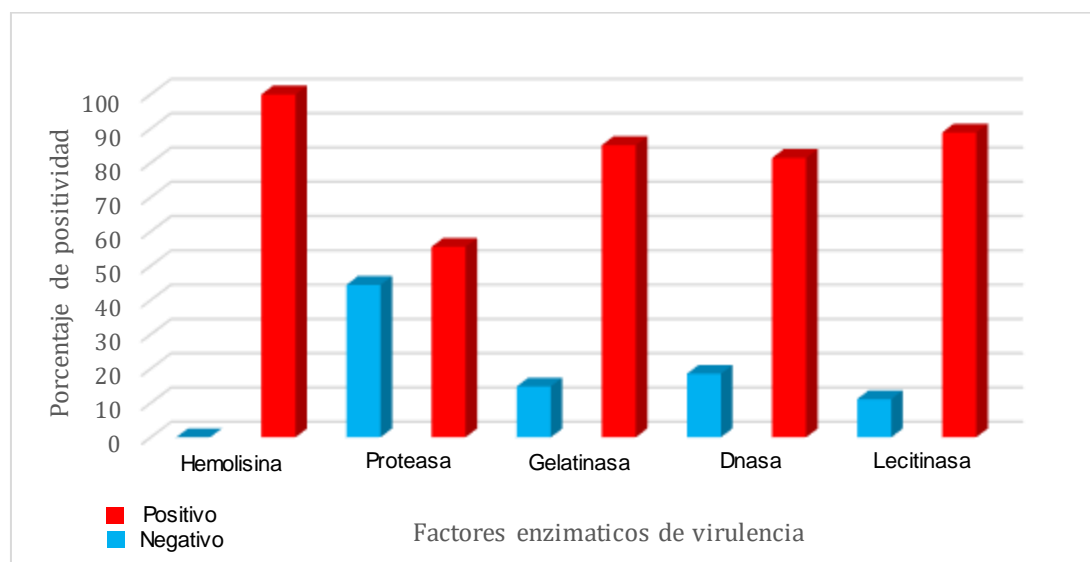


* A) Hemolisinas, B) Dnasa, C) Lecitinasa, D) Proteasa, E) Gelatinasa

Fuente: Caicedo & Lechuga, 2023

Se encontró que todas presentaron al menos un factor de virulencia. La enzima hemolisina estuvo presente en el 100 % de las cepas investigadas, mientras que la producción de la enzima lecitina se observó en el 89 % de las cepas, la licuefacción de la gelatina en un 85 % y 81 % positivas para la presencia de Dnasa. La enzima que se obtuvo en menor proporción fue proteasa con 56 % de cepas positivas. (Ver Figura 12)

Figura 12. Frecuencia de aislados que expresaron factores de virulencia



*Se muestra el porcentaje de positividad a factores enzimáticos de virulencia, hemolisina, proteasa, gelatinasa, dnasa y lecitinasa. Fuente: Caicedo & Lechuga, 2023

En la actualidad existen escasos estudios sobre los factores de virulencia en aislados de *V. cholerae* de América Latina y el Caribe (Arteaga M y col., 2020). Briceño I y col., (2009) describen la presencia de productos extracelulares tales como una enterotoxina termoestable NAG-ST, la TCP y la producción de enzimas gelatinasa, elastasa, lecitinasa y hemolisinas. Karagozova A y Salnikova O, (2000) realizó la determinación de enzimas como DNasa, gelatinasa, lecitinasa, elastasa y actividad hemolítica, a aproximadamente 100 cepas, en los resultados se observó que para DNasas el 15 % fueron positivo, gelatinasa 25 %, lecitina 22 %, elastasa 11 % positivo y un 27 % resultó con actividad hemolítica (Betahemólisis).

De igual manera, Cabrera y col (2008), en su estudio analizó alrededor de 65 aislados, de los cuales informó al menos dos factores de virulencia presentes en todos los aislados, en donde el 100 % fueron positivos a las enzimas hemolisina y gelatinasa, seguido de lecitinasa 80 %, DNasa 73,8 % y elastasa un 86,1 %. Del mismo modo Bueno en el año 2011, obtuvo un mayor porcentaje para los resultados de enzimas hemolisina y gelatinasa, aislados a partir de *V. cholerae* no-O1/no-O139 (Bueno Y, 2011).

Valariková J y col., (2019) Hablan de los factores de virulencia enzimáticos y presencia de toxinas en *V. cholerae*, en todos sus aislados se demostró la presencia de dos o más factores de virulencia, según los periodos de tiempo investigado, las enzimas identificadas fueron lecitinasa, DNasa, gelatinasa, elastasa y hemolisina. En cada uno de sus periodos de crecimiento se observó el mayor porcentaje de aislados positivos para las enzimas lecitinasa y gelatinasa.

La mayoría de los aislamientos de *V. cholerae* O1 biotipo El Tor y no-O1/no-O139 producen una exotoxina hemolítica, llamada El Tor Hemolisina o *V. cholerae* citolisina (VCC), codificada por el gene cromosomal hlyA. (Heidelberg *et al.*, 2000). Se ha reportado que VCC es capaz de causar severos efectos citotóxicos, tales como: lisis celular, vacuolización e incremento de la apoptosis en células del epitelio intestinal (Figuroa, 2001; 84. Bidinost, 2008) La revista argentina Microbiol (2004) señala que la hemólisis producida por *V. cholerae* O139 y por *V. cholerae* no-O1 es similar a la hemolisina El Tor de *V. cholera* O1, que es considerada un factor de virulencia para causar diarreas, especialmente cuando las cepas carecen de toxinas bien definidas como la toxina colérica (TC) (Bidinost *et al.*, 2004)

En esta investigación, todas las cepas produjeron la enzima hemolisina. Este resultado se encuentra relacionado a lo encontrado por Singh y cols, en la India y por Bininost y cols en Argentina (Singh DV *et al.*, 2001 & amp; Bidinost C *et al.*, 2004). Bhattacharya MK *et al.*, 1998 & amp; Boiko AV *et al.*, 2000 Señalan que, al revisar la bibliografía científica internacional en relación con la producción de proteasas, citotoxinas, lipasas, entre otras, el género *Vibrio*, señala que las mismas son comunes en este género, las cuales están implicadas en la producción de hemorragias, edemas y en la alteración del sistema de defensa del organismo, favoreciendo el desarrollo de los procesos infecciosos. Cabrera-Rodríguez (2008) señala que en su estudio la producción de las enzimas DNasa, gelatinasa, lecitinasa y elastasa, coincide con lo señalado anteriormente.

Finalmente, Saleh y col., descubren en Irán que durante el período 2007-2009, el 100 % de los aislados de *V. cholerae* no-O1 obtenidos de pacientes con EDA producían lecitinasa (Saleh TH y col., 2011). Así mismo, Bidinost y col., en el país de Argentina, publican que, en 63 aislados un total de 15 aislados de *V. cholerae* no-O1/no-O139, alrededor del 100 % producen hemolisinas (Bidinost C y col., 2004).

8. CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos queda en evidencia la presencia de *V.cholerae* en jagüeyes de Uribia, La Guajira, el cual refleja una problemática de salud pública para las comunidades Wayuu que se abastecen de esta agua, por lo que su consumo puede llegar a generar diarrea acuosa, acompañada de cólicos abdominales, náuseas, vómitos y fiebre. Con relación a los Jagüeyes se expone que, en su condición de ecosistema, agrupa condiciones ambientales idóneas para que se dé la sobrevivencia y estacionalidad de microorganismos patógenos para el humano como los miembros del género *Vibrio*; ya que la temperatura, pH y la salinidad se encuentran dentro del rango óptimo de sobrevivencia de dichos microorganismos.

Por otro lado, se observó que las técnicas convencionales y automatizadas (Microscan walkaway y MALDI-TOF) usadas para la identificación de estos microorganismos fueron eficientes, obteniendo una identificación de 27 cepas como *V. cholerae*. Igualmente, los resultados alcanzados de esta investigación aportan un nuevo conocimiento sobre la resistencia antimicrobiana en cepas de origen ambiental en el país y contribuyen al perfeccionamiento del sistema de vigilancia de *Vibrio cholerae* en agua; se demostró la resistencia de cepas a antibióticos como la ampicilina, tetraciclinas y algunas con susceptibilidad intermedia: cefazolina, ceftazidima e imipenem.

Este trabajo describe por primera vez, algunas propiedades de virulencia de *V. cholerae* aislados de aguas mediante análisis enzimático, resaltando la presencia de la enzima hemolisina en todas cepas investigadas, mientras que la enzima lecitina en el 89 %, gelatinasa en un 85 % y 81 % positivas para Dnasa. La enzima que se obtuvo en menor proporción fue proteasa con 56 % de cepas positivas. Finalmente, los jagüeyes son entornos acuáticos que pueden llegar a calentarse rápidamente, por lo que puede incrementar el número de infecciones humanas, en este orden de ideas, la presencia de este microorganismo está dictado en gran medida por la temperatura y sostenemos que representa un barómetro importante y tangible del cambio climático en los sistemas acuáticos.

9. RECOMENDACIONES

Futuras investigaciones deben relacionarse con los mecanismos genéticos de virulencia y de resistencia contra los antimicrobianos en estos microorganismos. Del mismo modo, promover el desarrollo de nuevas investigaciones que aborden acerca de la influencia de las variables sobre la presencia de *Vibrio* spp en Uribia, la Guajira.

Utilizar los resultados obtenidos en este estudio para el diseño de las estrategias focalizadas, referenciadas al patrón de distribución temporo-espacial y sugerir modificaciones en cuanto a estrategias del tratamiento y contribuir al perfeccionamiento continuo en cuanto al control de enfermedades.

IncurSIONAR sobre nuevos estudios en zonas aledañas al municipio de Uribia, pues son muchas las zonas que faltan por abarcar. Además, basados en informes a nivel mundial sobre la influencia del cambio climático en la dinámica poblacional de *Vibrio* spp, y la evidencia aquí aportada sobre su presencia en esta zona costera del país, sería útil la implementación de monitoreo en reservorios ambientales, ya que estos podrían actuar como potenciales focos de brotes y permitiría una rápida respuesta contención ante estos brotes

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abioye, O. E., Osunla, A. C., & Okoh, A. I. (2021). Molecular detection and distribution of six medically important *Vibrio* spp. in selected freshwater and brackish water resources in Eastern Cape Province, South Africa. *Frontiers in microbiology*, 12, 617703.
- Afanasev, M. V., Mironova, L. V., Basov, E. A., Ostyak, A. S., Kulikalova, E. S., Urbanovich, L. Y., & Balahonov, S. V. (2014). MALDI-TOF mass spectrometry in the accelerated identification of microorganisms of the *Vibrio* genus. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 29, 115-122.
- Alam, M., Myyoshi, S.I., Ahmed, K.U., Hasan, N.A., Tomochika, K.I. y Shinoda. S. 2006. Proteolytic Activation of *Vibrio mimicus* (Vm) Major Outer Membrane Protein Haemagglutinin (HA) with Hm-HA/Protease: Implication for Understanding Bacterial Adherence. *Microbiology and Immunology*. 50: 845-850.
- Andino, F. (2010). Microbiología del agua conceptos básicos. En Y. Castillo (Ed.) *Microbiología de alimentos* (pp. 33–50). 2.
- Antony, T., Anandan, Y., Somu, L. y Sekar, U. (2022). Exacerbación aguda de otitis media crónica supurada por *Vibrio cholerae* O39: reporte de un caso. *Revista Sri Ramachandra de Ciencias de la Salud*, 2 (1), 40-42.
- Antony, T., Añadan, Y., Somu, L., & Sekar, U. (2022). Acute exacerbation of chronic suppurative otitis media by *Vibrio cholerae* O39–A case report. *Sri Ramachandra Journal of Health Sciences*, 2(1), 40-42.
- Arcia Urda, A. C. (2018). Detección Molecular De Comunidades Microbianas En Agua Para El Consumo Humano En El Municipio De Sincelejo, Sucre-Colombia.
- Arévalo, Z., Clavijo, A. M., Álvarez, M., Conroy, D., Infante, D., & Santander, J. (2015). Aislamiento de *Vibrio cholerae* a partir de lisas y tilapias en Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 23(2), 127-130.
- Argentina. *Rev Argentina Microbiol* (2004); 36:158-63. 29. Sack D, Sack R, Nair G, Siddique A. Cholera. *Lancet* 2004; 363:223-33.

- Arrieta, S. N. E., Albuja, A., & Leal, F. D. A. (2021). Calidad fisicoquímica del agua de la laguna Colta. Chimborazo. Ecuador. *FIGEMPA: Investigación y Desarrollo*, 11(1), 76-81.
- Arteaga, M., Velasco, J., Rodríguez, Sh., Vidal, M., Arellano, C., Silva, F., et al. (2020). Genomic characterization of the non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* strain that caused a gastroenteritis outbreak in Santiago, Chile. *Microb Gen.* 12:3. doi: 10.1099/mgen.0.000340.
- Baker-Austin, C., Oliver, J. D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M. K., Qadri, F., & Martinez-Urtaza, J. (2018). *Vibrio* spp. infections. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 1-19.
- Bakhshi B, Eftekhari N y Pourshafie MR. Genetic Elements Associated With Antimicrobial Resistance Among Intestinal Bacteria Jundishapur. *J Microbiol.* 2014;7(5):e9924.
- Ballesteros Jerez, J. G., & Valdivieso Villamarín, A. C. (2018). Estudio de la problemática epidemiológica de la mastitis bovina en el cantón Cayambe (Bachelor 's thesis). Beg, Q.K., Saxena, R.K., Gupta, R. (2002). De-repression and subsequent induction of protease synthesis by *Bacillus mojavensis* under fed-batch operations. *Process Biochemistry.* 37:1103–1109.
- Bermejo, I. M. G. (2000). Diagnóstico de las infecciones humanas causadas por especies halófilas del género *Vibrio*. Servicio de Microbiología, Hospital de Getafe, 1-6.
- Bermejo, I. M. G. (2000). Diagnóstico de las infecciones humanas causadas por especies halófilas del género *Vibrio*. *Servicio de Microbiología, Hospital de Getafe*, 1-6.
- Bernheimer AW, Rumer NKr Elaboration of deoxy-rthonuclease by streptococci in the resting State and inhibition of the enzilne by a substance extractable from the cocci. *J Exp Med* 1951 399413.
- Bhattacharya MK, Dutta D, Bhattacharya SK, Deb A, Mukhopadhyay AK, Nair GB, et al. (1998) Association of a disease approximating cholera caused by *Vibrio cholerae* of serogroups other than O1 and O 139. *Epidemiol Infect* 120:1-5
- Bidinost C, Saka HA, Aliendro O, Sola C, PancetaDuttari G, Carranza P, et al. (2004) Virulence factors of non-O1 non-O139 *Vibrio cholerae* isolated in Córdoba, Argentina. *Rev Argentina Microbiol* 36:158-63

- Bier, N., Schwartz, K., Guerra, B., Strauch, E. (2015). Survey on antimicrobial resistance patterns in *Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 in Germany reveals carbapenemase-producing *Vibrio cholerae* in coastal waters. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1–11.
- Bier, N., Schwartz, K., Guerra, B., Strauch, E. (2015). Survey on antimicrobial resistance patterns in *Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 in Germany reveals carbapenemase-producing *Vibrio cholerae* in coastal waters. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1–11.
- Blazevic DJ, Ederer GM. Principles of biochemical test in diagnostic microbiology. New York, J. Wiley. 1975
- Boiko AV. (2000) Pathogenicity factors of various *Vibrios* and *Aeromonas*. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 79:104-8
- Boiko AV. Pathogenicity factors of various *Vibrios* and *Aeromonas*. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 2000; 79:104-8.
- Bos R. A global picture of the diverse links between water and health. *Geoscience*. 2005;337(1–2):277–8.
- Boya, B., Sina, H., Ahoyo, T. A., Dognon, V. T., Socohou, A., Maman, N. M., ... & Baba-Moussa, L. S. (2021). Risk of *Vibrio* transmission linked to consumption and contact with water in Benin. *International Journal of Medical Arts*, 3(3), 1624-1635.
- Bravo Fariñas, L., Fernández, A., Ramírez, M. M., Llop, A., Martínez, G., Hernández, R. I., ... & Aguila, A. (2007). Caracterización microbiológica de cepas de *Vibrio cholerae* no-O1 aisladas en Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 59(3), 0-0.
- Bravo L, Fernández A, Ramírez M, Fernández C, Ledo Y, Correa Y, et al. Caracterización microbiológica de *Vibrio cholerae* no O1 aisladas de Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 2007;59(3):184-6.
- Briceño, I., Puebla, C., Guerra, F., Jensen, D., Núñez, H., Ulloa, M., et al. (2009). Septicemia fatal causada por *Vibrio cholerae* no-O1, no-O139 hemolítico en Chile. Caso clínico. *Rev Méd Chile*, 137 (9): 1193-1196
- Bueno, Y. (2011). Caracterización fenotípica de cepas de *Vibrio cholerae* no-O1 aisladas de pacientes con enfermedad diarreica aguda. Tesis para optar por el título de Licenciatura en Microbiología y Virología. IPK, La Habana, Cuba.

- Bui T, Preuss C. V. (2020). Cephalosporins. [Updated 2020 Mar 24]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Disponible em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551517/>. Acesso em: 16/07/2020.
- Bush, L. M., & Vazquez-Pertejo, M. T. (s/f). Infecciones por Vibrio no colérico. Manual MSD versión para profesionales. Recuperado el 18 de julio de 2022, de <https://www.msdmanuals.com/es-co/professional/enfermedades-infecciosas/bacilos-gramnegativos/infecciones-por-vibrio-no-col%C3%A9rico>
- C., & Elsa, R. (s/f). EL HERMANO PEQUEÑO DEL CÓLERA VIBRIO MIMICUS.Unam.mx. Recuperado el 18 de julio de 2022, de https://ru.tic.unam.mx/bitstream/handle/123456789/880/abr_art34.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Cabrera, L. (2008). Susceptibilidad a los antimicrobianos y factores de virulencia en cepas de Vibrio cholerae no-O1 aisladas de pacientes con enfermedad diarreica aguda. Tesis para optar por el título de Máster en Bacteriología-Micología. IPK, La Habana, Cuba
- Cabrera-Rodríguez, L. E., Bravo-Fariñas, L., Ramírez-Álvarez, M. M., Llop-Hernández, A., Fernández-Abreu, A., Morier, L., & Borrego-Hernández, G. (2008). Susceptibilidad a los antimicrobianos y factores de virulencia en cepas de Vibrio cholerae no-O1 aisladas de pacientes con enfermedad diarreica aguda. *Revista Biomédica*, 19(3), 138-144.
- Cabrera-Rodríguez, L. E., Bravo-Fariñas, L., Ramírez-Álvarez, M. M., Llop-Hernández, A., Fernández-Abreu, A., Morier, L., & Borrego-Hernández, G (2008). Susceptibilidad a los antimicrobianos y factores de virulencia en cepas de Vibrio Cholerae no-O1 aisladas de pacientes con enfermedad diarreica aguda. *Revista Biomédica*, 19(3), 138-144.
- Canellas, A. L. B. (2020). Isolamento e caracterização de bactérias do gênero Vibrio das águas da Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brasil. *Repositório Institucional Pantheon*.
- Castro, C. F. 1989. Manual Práctico de Bacteriología Marina, Laboratorio de larvas de camarón. Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar ESPOL. Guayaquil – Ecuador.
- Center for Food Safety and Applied Nutrition (2019) *Bam Chapter 9: Vibrio*, U.S. Food and Drug Administration. Available at: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-9-vibrio>.

- Centers for Disease Control and Prevention. (1994). Laboratory methods for the diagnosis of *Vibrio cholerae*. Atlanta, GA, 500, 38-67.
- Chakraborty, R., Chakraborty, S., Keya, D., Sinha, S., Mukhopadhyay, A.K., Khanam, J., Ramamurthy T., Takeda Y., Bhattacharya S.K. y Nair G. B. (2005). Cytotoxic and cell vacuolating activity of *Vibrio fluvialis* isolated from paediatric patients with diarrhoea. *J Med Microbiol*, 54 (8), 707-716.
- Chakraborty, S., Mukhopadhyay, A. K., Bhadra, R. K., Ghosh, A. N., Mitra, R., Shimada, T., Yamasaki, S. Colwell, R. R. (2000). Virulence genes in environmental strains of *Vibrio cholerae*. *Appl Environ Microbiol*, 66 (9), 4022-4028.
- Chatterjee, P., Kanungo, S., Bhattacharya, S. K., Dutta, S. (2020). Mapping cholera outbreaks and antibiotic resistant *Vibrio cholerae* in India: An assessment of existing data and a scoping review of the literature. *Vaccine*, 38, A93-A104.
- Chen YT, Tang HJ, Chao CM, Lai CC. (2015) Clinical Manifestations of Non-O1 *Vibrio cholerae* Infections. *PLoS ONE*. 2015;10(1):e0116904. doi: 10.1371/journal.pone.0116904.
- Chen, C.Y., Wu, K.M., Chang, Y.C., Chang, C.H., Tsai, H.C., Liao, T.L., . . . Tsai, S.F. (2003). Comparative genome analysis of *Vibrio vulnificus*, a marine pathogen. *Genome Res*, 13 (12), 2577-2587.
- Chen, M.-X., Li, H.-Y., Li, G., & Zheng, T.-L. (2011). Distribution of *Vibrio alginolyticus*-like species in Shenzhen coastal waters, China. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(3),
- Cheng WC, Jan IS, Chen JM et al. Evaluation of the Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of blood isolates of *Vibrio* species. *Journal of clinical microbiology*, 53(5), 1741-1744 (2015).
- Chepe Pinglo, M. E., & Silva Pérez, J. E. (2018). Identificación de especies del género *Vibrio* de aguas subterráneas de los pozos del Distrito de Mórrope, Lambayeque—Perú 2017.
- Chimetto, LA, Cleenwerck, I., Moreira, APB, Brocchi, M., Willems, A., De Vos, P. y Thompson, FL (2011). *Vibrio variabilis* sp. nov. y *Vibrio maritimus* sp. nov., aislada de *Palythoa caribaeorum*. *Revista internacional de microbiología sistemática y evolutiva*, 61 (12), 3009-3015.

- Chin, J. El control de las enfermedades transmisibles. (2001). 17ed. Washington, DC. OPS: Publicación científica y técnica No. 581
- Chiou, J., Li, R., Chen, S. (2015). CARB-17 family of β -lactamases mediates intrinsic resistance to penicillins in *Vibrio parahaemolyticus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(6), 3593-3595.
- Chowdhury, G., Joshi, S., Bhattacharya, S., Sekar, U., Birajdar, B., Bhattacharyya, A., Sumio, S., Y Ramamurthy, T. (2016). Extraintestinal infections caused by nontoxigenic *Vibrio cholerae* Non-O1/Non-O139. *Front Microbiol*, 7, 144.
- Chowdhury, G., Pazhani, G. P., Sarkar, A., Rajendran, K., Mukhopadhyay, A. K., Bhattacharya, M. K., Ghosh, A., Ramamurthy, T. (2016). Carbapenem resistance in clonally distinct clinical strains of *Vibrio fluvialis* isolated from diarrheal samples. *Emerging Infectious Diseases*, 22(10), 1754-61.
- Chowdhury, N.R., Chakraborty, S., Ramamurthy, T., Nishibuchi, M., Yamasaki, S., Takeda, Y. y Nair, G.B. (2000). Molecular evidence of clonal *Vibrio parahaemolyticus* pandemic strains. *Emerg Infect Dis*, 6 (6), 631-636.
- Chunga Espinoza, J. C. (2018). *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus* toxigénicos en cuerpos de agua de Piura. coagulase-negative staphylococci isolated from clinical specimens. *J Clin. Microbiol* 1982;15(4):640-645.
- Colwell, JJ (2016). Los efectos de la temperatura y la salinidad sobre las especies de *Vibrio* en el estuario de Breton Sound. Tesis de maestría de LSU.
- Corpogujaira. (2007). Colombia una Nación Multicultural. Su Diversidad Étnica Dirección decensos Demografía. <https://corpogujaira.gov.co>
- Cuéllar-Anjel, J.(2013). Tipos de Vibriosis. Deshayes S, Daurel C, Cattoir V, Parienti JJ, Quilici ML, de La Blanchardière A.(2015) Non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* bacteraemia: case report and literature review. *Springerplus*. 2015;4:575. doi: 10.1186/s40064-015-1346-3
- CUMBICOS, D. O., & RUIZ, J. A. (2018). Ciclo de proliferación de cepas bacterianas *Vibrio* spp y *Pseudomonas* spp en juveniles de concha prieta (*Anadara tuberculosa*). *Revista Espacios*, 39(13).

- Das, B., Verma, J., Kumar, P., Ghosh, A., Ramamurthy, T. (2019). Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae*: Understanding the ecology of resistance genes and mechanisms. *Vaccine*, 38, A83–A92.
- Das, B., Verma, J., Kumar, P., Ghosh, A., Ramamurthy, T. (2019). Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae*: Understanding the ecology of resistance genes and mechanisms. *Vaccine*, 38, A83–A92.
- Devi, R., Surendran, P. K., Chakraborty, K. (2009). Antibiotic resistance and plasmid profiling of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from shrimp farms along the Southwest coast of India. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 2005–2012.
- Díaz-Quiñonez, A., Hernández-Monroy, I., Montes-Colima, N., Moreno-Pérez, A., Galicia-Nicolás, A., Martínez-Rojano, H., Carmona-Ramos, C., Sánchez-Mendoza, M., Rodríguez-Martínez, J. C., Suárez-Idueta, L., Jiménez-Corona, M. E., Ruiz-Matus, C., Kuri-Morales, P., & Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2014).
- Dunmire, CN, Chac, D., Chowdhury, F., Khan, AI, Bhuiyan, TR, LaRocque, RC, ... y Weil, AA (2022). Aislamiento de *Vibrio cholerae* a partir de muestras de heces y vómitos congelados. *Revista de Microbiología Clínica*, 60 (10), e01084-22.
- Enkateswaran, KASTHURI, Kiiyukia, C., Takaki, M., Nakano, H., Matsuda, H., Kawakami, H. y Hashimoto, H. (1989). Caracterización de vibrios toxigénicos aislados del ambiente de agua dulce de Hiroshima, Japón. *Microbiología aplicada y ambiental*, 55 (10), 2613-2618
- Fader RC, Weaver E, Fossett R, Toyras M, Vanderlaan J, et al. (2013) Multilaboratory study of the biomic automated wellreading instrument versus MicroScan WalkAway for reading MicroScan antimicrobial susceptibility and identification panels. *J Clin Microbiol* 51: 1548-1554.
- Faja, O. M., Abd Sharad, A., Younis, K. M., Alwan, M. G., Mohammed, B. J., Ahmad, A. (2019). Isolation, detection of virulence genes, antibiotic resistance genes, plasmid profile, and molecular typing among *Vibrio parahaemolyticus* isolated in Malaysian seawater from recreational beaches and fish. *Veterinary World*, 12(7), 1140–1149.

- Farmer, J., Janda, J., Brenner, F., Cameron, D., Birkhead, K. (2015). *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Recuperado de: <http://doi:10.1002/9781118960608.gbm01078>.
- Fernandez F, S., & Alonso, G. (2009). Colera y *Vibrio cholerae*. *Revista del Instituto Nacional de Higiene*, 40(2), 50–69. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772009000200006
- Figueroa-Arredondo P, Heuser JE, Akopyants NS, Morisaki JH, Giono-Cerezo S, Enriquez-Rincon F, et al. Cell vacuolation caused by *Vibrio cholerae* hemolysin. *Infect Immun*. 2001 Mar;69(3):1613-24.
- Franco–Monsreal, J., del Socorro Serralta–Peraza, LE, & Flores–Abuxapqui, JJ (2021). *Vibrio alginolyticus* en alimentos marinos de origen animal provenientes de establecimientos del puerto de Chabihau, Yucatán, México: *Vibrio alginolyticus* en alimentos marinos de origen animal provenientes de establecimientos del puerto de Chabihau, Yucatán, México. *Revista de Desarrollo del Sur de Florida* , 2 (5), 7523-7538.
- Galarza Serrano, S. A., & León Molina, J. A. (2022). *Determinación de vibrio SPP en aguas de piscinas camaroneras en Taura, Cantón Naranjal, Provincia del Guayas* (Doctoral dissertation, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas).
- García, E., Hernández, A., Herrero J.A. y Gómez, J. (2010). Cólera y otras infecciones del género *Vibrio*. *Medicine*, 10 (52), 3489-3496.
- genome suggests two distinct ecotypes. *Environmental Microbiology Reports*, 2(1), 128-132
- Gil, Marielsa. (22 de marzo de 2019). Agua peptonada: fundamento, preparación y usos. Lifereder. Recuperado de <https://www.lifereder.com/agua-peptonada/>.
- Gomez, B. y Roque, A 2006. Isolation, enumeration, and preservation of the Vibrionaceae Chapter 2, *The Biology of Vibrios*. Washington, D.C. ASM Press.
- González, E., Tercero, J., Quiñónez, E. y Vázquez. C. 2005. El Hermano pequeño del cólera *Vibrio mimicus*. *Revista Digital Universitaria*. 6: 1-8.
- González, L.M., Casanova, M.C., Pérez, J. Cólera: historia y actualidad. (2011). *Rev Ciencias Médicas*. 15 (4). Recuperado de: www.revcompinar.sld.cu/index.php/publicaciones/article/view/856/1578.

- González-Ávila G, González A, Delgado J, Gutiérrez-González LH. Participación de las metaloproteasas de matriz en la progresión del cáncer. *Rev del Instituto Nac Enfermedades Respir.* 2010;22(4):328–36.
- González-Escalona, N., Blackstone, G. M., & DePaola, A. (2006). Characterization of a *Vibrio alginolyticus* strain, isolated from Alaskan oysters, carrying a hemolysin gene similar to the thermostable direct hemolysin-related hemolysin gene (trh) of *Vibrio parahaemolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12), 7925–7929. <https://doi.org/10.1128/AEM.01548-06>
- Guardiola-Avila, I., Martínez-Vázquez, V., Requena-Castro, R., Juárez-Rendón, K., Aguilera-Arreola, M. G., Rivera, G., & Bocanegra-García, V. (2018). Isolation and identification of *Vibrio* species in the Rio Bravo/Grande and water bodies from Reynosa, Tamaulipas. *Letters in applied microbiology*, 67(2), 190-196.
- Guardiola-Avila, INoriega-Orozco, L., Gómez-Gil, B., & Acedo-Félix, E. (2014). Factores de Virulencia de *Vibrio mimicus*. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 17(2), 38-49.
- Hackbusch, S., Wichels, A., Gimenez, L., Döpke, H., & Gerdt, G. (2020). Potentially human pathogenic *Vibrio* spp. in a coastal transect: Occurrence and multiple virulence factors. *The Science of the Total Environment*, 707(136113), 136113.
- Han, F., Wang, F., & Ge, B. (2011). Detecting potentially virulent *Vibrio vulnificus* strains in raw oysters by quantitative loop-mediated isothermal amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(8), 2589–2595. <https://doi.org/10.1128/AEM.02992-10>
- Han, J. E., Mohny, L. L., Tang, K. F., Pantoja, C. R., Lightner, D. V. (2015). Plasmid mediated tetracycline resistance of *Vibrio parahaemolyticus* associated with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimps. *Aquaculture Reports*, 2, 17-21.
- Han, J.H., Lee, J.H., Choi, Y.H., Park, J.H., Choi, T.J. y Kong, I.S. (2002). Purification, characterization and molecular cloning of *Vibrio fluvialis* hemolysin. *Biochim Biophys Acta*, 1599 (1-2), 106-114.
- Haque, Z. F., Islam, Md. S., Sabuj, A. A. M., Pondit, A., Sarkar, A. K., Hossain, Md. G., & Saha, S. (2023). *Molecular detection and antibiotic resistance of vibrio cholerae, vibrio parahaemolyticus, and vibrio alginolyticus from shrimp (penaeus monodon) and shrimp environments in Bangladesh.* *Aquaculture Research*. <https://www.hindawi.com/journals/are/2023/5436552/>

- Harper HA, Rodwell VW, Mayes PA. Review of Physiological Chemistry, ed 1 6_ LOS Altos. CA: LanMedical Publications, 1997: 131 ,41 1, 430.
- Hasan, N. A., Ceccarelli, D., Grim, C. J., Taviani, E., Choi, J., Sadique, A., . . . Colwell, R. R. (2013). Distribution of virulence genes in clinical and environmental *Vibrio cholerae* strains in bangladesh, *Appl Environ Microbiol.* 79 (18), 5782-5
- Heidelberg JF, Eisen JA, Nelson WC, Clayton RA, Gwinn ML, Dodson RJ, et al. DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae*. *Nature.* 2000 Aug 3;406(6795):477-83.
- Hernández Cortez, C., Aguilera Arreola Ma, G., & Castro Escarpulli, G. (2011). Situación de las enfermedades Gastrointestinal diseases, situation in gastrointestinales en México Mexico. 31, 15.
- Hernandez, M., Alvarez, A., Juarez, P., Bonifacio, N., Quesada, C., Vazquez, C. y Quinones, E. (2016). Virulence factors and antimicrobial resistance in environmental strains of *Vibrio alginolyticus*. *Int Microbiol*, 19 (4), 191-198.
- Herrera-Benavente, I.F., Comas-García, A., Mascareñas-de los Santos, A.H. (2018). Impacto de las enfermedades diarreicas agudas en América Latina. Justificación del establecimiento de un Comité de Enfermedades Diarreicas en SLIPE. *Rev Latin Infect Ped*, 31(1): 8-16.
- Holum JR. Elements of General and biological Chemistry ed.4. New york, John wiley & Sons, 1975: 340.
- Horseman, M. y Surani, S. (2011). A comprehensive review of *Vibrio vulnificus*: an important cause of severe sepsis and skin and soft-tissue infection. *International Journal of Infectious Diseases*, 15 (3), 157-166.
- Hosen, M. A., Ovi, F. K., Rashid, H., Hasan, M. H., Khalek, M. A., Hasan, M., Easmin, F., Rumi, N. A., & Islam, M. S. (2021). Characterization of *Vibrio* spp. in environmental water samples collected from flood prone areas of Bangladesh and their antibiotic resistance profile. *AIMS Microbiology*, 7(4), 471–480. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cholera>
- Hoz Zavala, E., Lanza Espino, G. D. L., & Álvarez Arellano, A. (2003). Características geológicas, sedimentológicas y químicas de un pequeño cuerpo de agua superficial (jagüey) en el noreste de México. *Investigaciones geográficas*, (51), 7-22.
- Hsueh, B.Y., Waters, C.M. (2019). Combating Cholera [version 1; peer review: 2 approved] F1000 Research, 8 (F1000 Faculty Rev):589 doi.org/10.12688/f1000research.18093.1.

- Huhulescu S, Indra A, Feierl G, Stoeger A, Ruppitsch W, Sarkar B, et al. Presencia de serogrupos de *Vibrio cholerae* distintos de O1 y O139 en Austria. *Wien Klin Wochenschr* 2007;119:235-41.
- Igbinosa, E.O. y Okoh, A.I. (2010). *Vibrio fluvialis*: An unusual enteric pathogen of increasing public health concern. *Int J Environ Res Public Health*, 7 (10), 3628-3643
- Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.SARTORIUS, 2003. Microbiological Testing of Foods, Beverages and Pharmaceuticals. 'SARTORIUS. Publication No.:5M-4017-e97116. Goettingen, Germany. 19 páginas.
- Instituto Nacional de Salud (2017) Guía para la vigilancia por laboratorio de *Vibrio cholerae*. Available at: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Gu%C3%ADa%20para%20la%20vigilancia%20por%20laboratorio%20de%20Vibrio%20cholerae.pdf>
- Investigación, R. S. (2021, octubre 1). Toxiinfecciones alimentarias *por Vibrio parahaemolyticus*. ▷ RSI - Revista Sanitaria de Investigación. <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/toxiinfecciones-alimentarias-por-vibrio-parahaemolyticus/>
- J. W. Jun, J. H. Kim, C. H. Choresca Jr et al., “Isolation, molecular characterization, and antibiotic susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* in Korean seafood,” *Foodborne Pathogens and Disease*, vol. 9, no. 3, pp. 224–231, 2012.
- Jang, H. C., Choi, S. M., Kim, H. K., Kim, S. E., Kang, S. J., Park, K. H., Ryu, P. H., Lee, T. H., Kim, Y. R., Rhee, J. H., Jung, S. I., Choy, H. E. (2014). In vivo efficacy of the combination of ciprofloxacin and cefotaxime against *Vibrio vulnificus* sepsis. *PLoS One*, 9(6), e101118.
- Jeffries CD, Holtman F, Gusc DG. Rapid method determining the activity on microorganisms on nucleic acids. *J bacterial*, 1957;73(4): 590-591.
- Jiang, Y., Yao, L., Li, F., Tan, Z., Zhai, Y., Wang, L. (2014). Characterization of antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* from cultured sea cucumbers (*Apostichopus japonicas*). *Letters in Applied Microbiology*, 59, 147–154.
- Jin, WY, Jang, SJ, Lee, MJ, Park, G., Kim, MJ, Kook, JK, ... y Park, YJ (2011). Evaluación de VITEK 2, MicroScan y Phoenix para identificación de aislados

- clínicos y cepas de referencia. *Microbiología diagnóstica y enfermedades infecciosas*, 70 (4), 442-447.
- JJohnson, C. N., Bowers, J. C., Griffitt, K. J., Molina, V., Clostio, R. W., Pei, S., ..& Colwell, R. R. (2012). Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in the coastal and estuarine waters of Louisiana, Maryland, Mississippi, and Washington (United States). *Applied and environmental microbiology*, 78(20), 7249-7257.
- Joshi, R. M., & Albert, M. J. (2009). Hybrid El Tor *Vibrio cholerae* O1, Kuwait. *Emerging infectious diseases*, 15(11), 1879–1880.
<https://doi.org/10.3201/eid1511.090357>
- Jun, J. W., Kim, J. H., Choresca Jr, C. H., Shin, S. P., Han, J. E., Han, S. Y., Chai, J. Y., Park, S. C. (2012). Isolation, molecular characterization, and antibiotic susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* in Korean seafood. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(3), 224-231.
- Jung, S. H., Ryu, C. M., Kim, J. S. (2019). Bacterial persistence: Fundamentals and clinical importance. *Journal of Microbiology*, 57(10), 829-835
- Kamal, S., Rehman, S., y Iqbal, H.M.N. (2017). Biotechnological valorization of proteases: from hyperproduction to industrial exploitation: *Environmental Progress & Sustainable Energy*. 36:511–522.
- Karagozova, A., Salnikova, O. (2000). The expression of the pathogenic properties of the *Vibrio cholerae* O139 serogroup in vitro. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*, 3, 7-10.
- Kozloff Origin fate of material. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1953; 18: 209-220.
- Kudryashov DS, Cordero CL, Reisler E, Satchell KJ. Characterization of the Enzymatic Activity of the Actin Cross-linking Domain from the *Vibrio cholerae* MARTXVc Toxin. *J Biol Chem*. 2008 Jan 4;283(1):445-52.
- Kurdi, M., Mutalib, S., Ghani, M. y Aldulaimi, M. (2014). A review of important virulence factors of *Vibrio vulnificus*. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 6 (2), 76-88.
- Lafourcade, Mónica. 2005. *Novedades: Vibrio parahaemolyticus*. Chile. Disco compacto.
- Leber TM, Balkwill FR. Zymography: A single-step staining method for quantitation of proteolytic activity on substrate gels. *Anal Biochem*. 1997;249(1):24–8.

- Lee, L. H., Mutalib, N. S. A., Law, J. W. F., Wong, S. H., Letchumanan, V. (2018). Discovery on antibiotic resistance patterns of *Vibrio parahaemolyticus* in Selangor reveals carbapenemase producing *Vibrio parahaemolyticus* in marine and freshwater fish. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1–13.
- Lu, B., Zhou, H., Li, D., Li, F., Zhu, F., Cui, Y., Huang, L., Wang, D. (2014). The first case of bacteraemia due to non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* in a type 2 diabetes mellitus patient in mainland China. *International Journal of Infectious Diseases*. 25, 116–118
- Macfaddin, J. F. (2003). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica (3a ed.). Editorial Medica Panamericana.
- Mai, NTT, Mỹ, VP y Hiền, VM (2023). SO SÁNH KẾT QUẢ ĐỊNH DANH MÁY MICROSCAN WALKAWAY VÀ KIT API Ở BỆNH NHÂN NHIỄM KHUẨN TIÊU HÓA, THẬN TIẾT NIỆU TẠI BỆNH VIỆN NHI ĐỒNG THÀNH PHỐ. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 524 (2).
- Majano-Mendoza, A., Bravo-Fariñas, L., Fernández-Abreu, A., Martínez-Motas, I., Núñez, F., Mederos-Cuervo, L. M., ... & Castro-Escarpulli, G. (2009). Caracterización fenotípica de bacilos gramnegativos anaerobios facultativos oxidasa positiva, aislados de pacientes con enfermedad diarreica aguda en Cuba. *Revista Biomédica*, 20(1), 25-32.
- Maje, M. D., Kaptchouang Tchatchouang, C. D., Manganyi, M. C., Fri, J., & Ateba, C. N. (2020). Characterisation of *Vibrio* species from surface and drinking water sources and assessment of biocontrol potentials of their bacteriophages. *International journal of microbiology*, 2020.
- Mansergh, S., & Zehr, J. P. (2014). *Vibrio* diversity and dynamics in the Monterey Bay upwelling region. *Frontiers in Microbiology*, 5, 48
- Marco F, Jurado A, Jiménez de Anta MT. Evaluación del sistema Phoenix para la identificación y determinación de la susceptibilidad de aislamientos clínicos. Estudio comparativo con el sistema Microscan. *Rev Esp Quimioterap* 2004; 17: 169-176
- Marsik E. Brake S. Species identification and susceptibility to 17 antibiotics of
- Massey, A., Misra, P., Charan, AA y Verma, OP (2019). Prevalencia de especies de *vibrio cholerae* en cuerpos de agua de Bareilly, Uttar Pradesh.
- McCarter, L.L. 2001. Polar Flagellar Motility of the Vibrionaceae. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 65: 445-462

- Mejía Gómez, M. (2022). Caracterización hidrogeoquímica de los municipios de Manaure y Uribia en La Guajira, Colombia.
- Miller, M.B. y Bassler. B.L. 2001. Quorum Sensing in Bacteria. Annual Review of Microbiology. 55: 165-99.
- MILLIPORE, 2005. Análisis Microbiológico. 2005 edición. Madrid, España. 48 páginas
- Miyoshi, SI (2013). Enzimas proteolíticas extracelulares producidas por especies de *Vibrio* patógenas humanas. Fronteras en microbiología , 4 , 339.
- Morris, J. y Achenson, D. (2003). Cholera and other types of vibriosis: a story of human pandemics and oysters on the half shell. Clinical Infectious Diseases, 37 (2), 272- 280.
- Morris, J. y Achenson, D. (2003). Cholera and other types of vibriosis: a story of human pandemics and oysters on the half shell. Clinical Infectious Diseases, 37 (2), 272- 280.
- Mustapha, S, Mustapha, M y Nozha. C. (2013). *Vibrio alginolyticus*: An emerging pathogen of foodborne diseases. Maejo international journal of science and technology. 2. 302-309.
- Mustapha, S., Mustapha, EM y Nozha, C. (2013). *Vibrio alginolyticus*: un patógeno emergente de enfermedades transmitidas por alimentos. Revista Internacional de Ciencia y Tecnología , 2 (4), 302-309.
- Nateghizad, H., Sajadi, R., Shivaee, A., Shirazi, O., Sharifian, M., Tadi, D. A., & Amini, K. (2023). *Resistance of vibrio cholera to antibiotics that inhibit cell wall synthesis: A systematic review and meta-analysis*. Frontiers. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2023.1027277/full>
- Newton, A.E., Garrett, N., Stroika, S.G., Halpin, J.L., Turnsek, M., Mody, R. K. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2014). Increase in *Vibrio parahaemolyticus* infections associated with consumption of atlantic coast shellfish--2013. Mmwr.Morbidity and Mortality Weekly Report, 63 (15), 335–336
- Ng, C., Goh, S. G., Saeidi, N., Gerhard, W. A., Gunsch, C. K., & Gin, K. Y. H. (2018). Occurrence of *Vibrio* species, beta-lactam resistant *Vibrio* species, and indicator bacteria in ballast and port waters of a tropical harbor. The Science of the Total Environment, 610–611, 651–656.
- Nordmann, P., Poirel, L., Walsh, T. R., Livermore, D. M. (2011). The emerging NDM carbapenemases. Trends in Microbiology, 19(12), 588-595.

- Ojeda Rodríguez JA, Kahwaji CI. *Vibrio cholerae*. [Actualizado el 4 de junio de 2021]. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): Publicación de StatPearls; 2022 ene-. Disponible en:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526099/>
- OMS,(2022). Agua para Consumo Humano. World Health Organization. Retrieved November 14, 2022, from <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
- Onohuean, H., Okoh, A. I., & Nwodo, U. U. (2022). Antibioqram signatures of *Vibrio* species recovered from surface waters in South Western districts of Uganda: Implications for environmental pollution and infection control. *Science of The Total Environment*, 807, 1507060.
- OPS. (2022). Agua y saneamiento. OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. Retrieved November 14, 2022, from <https://www.paho.org/es/temas/agua-saneamiento>
- Otiniano García, N. M., Benites Castillo, S., Vicuña Villacorta, J., Miranda Chávez, H., & Robles Castillo, H. (2021). Estabilidad a pH y temperatura de proteasas producidas por bacterias aisladas de sedimento marino.
- Outbreak of *Vibrio cholerae* serogroup O1, serotype Ogawa, biotype El Tor strain--La Huasteca Region, Mexico, 2013. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 63(25), 552–553.
- Pandey, N., Cascella, M. (2020). Beta lactam antibiotics. Disponivel em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545311/>. Acesso em: 17/10/2020
- Parra Malagón, N. L. (2023). Filtro de agua para mejorar la calidad de vida en la comunidad Wayuú.
- Peradotto, M., Bondi, A., Bianco, G., Iannaccone, M., Barbui, AM, Costa, C. y Cavallo, R. (2022). Comparación de tres métodos comerciales diferentes para la prueba de susceptibilidad a fosfomicina en *Pseudomonas aeruginosa*. *Resistencia microbiana a fármacos*, 28 (9), 911-915
- Pompa Ramos, I. J. (2022). Caracterización molecular de aislamientos de *Vibrio cholerae* O1 obtenidos durante períodos epidémicos de 1991-1995 en Perú.
- Prescott, L., Harley, J. y Klein. D. 2002. *Microbiology*, 5th ed. The McGraw-Hill Companies., Boston.
- Qazi, R. M. (2019). Isolation and characterization of *vibrio* spp. from surface water in Dhaka city (Doctoral dissertation, Brac University).
- Qbpgonzalez Vazquez, P., En, M., Quiñónez,

- Raghunath, P. (2015). Funciones de la hemolisina directa termoestable (TDH) y la hemolisina relacionada con TDH (TRH) en *Vibrio parahaemolyticus*. *Fronteras en microbiología*, 5, 805.
- Ramamurthy, T., Chowdhury, G., Pazhani, G. P. y Shinoda, S. (2014). *Vibrio fluvialis*: an emerging human pathogen. *Front Microbiol*, 5 (91).
- Raszl, S.M., Froelich, B.A., Vieira, C.R., Blackwood, A.D. y Noble, R.T. (2016). *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in South America: water, seafood and human infections. *J Appl Microbiol*, 121(5), 1201-1222.
- Relloso, M. S., Nievas, J., Fares Taie, S., Farquharson, V., Mujica, M. T., Romano, V., Zarate, M. S., & Smayevsky, J. (2015). Evaluación de la espectrometría de masas: MALDI-TOF MS para la identificación rápida y confiable de levaduras. *Revista Argentina de microbiología*, 47(2), 103–107. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.02.004>
- Relloso, MS, Nievas, J., Taie, SF, Farquharson, V., Mujica, MT, Romano, V., ... & Smayevsky, J. (2015). Evaluación del espectro de masas: MALDI-TOF MS para la identificación rápida y confiable de levaduras. *Revista argentina de Microbiología*, 47 (2), 103-107.
- Rodríguez, J. P. (2010). Contaminación del agua. Contaminación ambiental en Colombia (págs. 255-300). Bogotá: Fundación en causa por el desarrollo humano.
- Rodríguez, M. V. I., Mesa, L. G., Guilarte, E. O., Valcárcel, C. M. Á., Gallardo, G. M. L., & Moreira, R. R. N. (2020). Influencia del pH y la concentración de NaCl en el crecimiento y emisión de luz de dos cepas de *Vibrio harveyi*. *Biotecnología Aplicada*, 37(4), 4211-4217.
- Rodríguez-Martínez, J. M., Machuca, J., Cano, M. E., Calvo, J., Martínez-Martínez, L., Pascual, A. (2016). Plasmid-mediated quinolone resistance: two decades on. *Drug Resistance Updates*, 29, 13-29.
- Roldán, G. y Ramírez, J. J. 2008. *Fundamentos de limnología neotropical* (2.a ed.). Medellín, Antioquia, Colombia: Universidad de Antioquia.
- Rosas, I., Alejandro Cravioto & Ezequiel Ezcurra. 2004. Instituto Nacional de Ecología. *Microbiología Ambiental*. 1ª edición. México. 47-66 pp.
- Rosche, T. M., Binder, E. A., & Oliver, J. D. (2010). *Vibrio vulnificus*
- Rychert J, Creely D, Mayo-Smith LM et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of *Vibrio cholerae*. *Journal of clinical microbiology*, 53(1), 329-331 (2015).

- Sabotic J., Kos J. (2012). Microbial and fungal protease inhibitors—current and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 93:1351–1375.
- Saha, R., Saha, N., Donofrio, R. y Bestervelt. L. 2012. Microbioal siderophores: a mini review. *Journal of Basic Microbiology*. 52: 1-15
- Saka HA, Bidinost C, Sola C, Carranza P, Collino C, Ortiz S, et al. *Vibrio cholerae* cytotoxin is essential for high enterotoxicity and apoptosis induction produced by a cholera toxin gene-negative *V. cholerae* non-O1, non- O139 strain. *Microbial pathogenesis*. 2008 Feb;44(2): 118-28.
- Saleh, T., Sabba, M.A., Asem, K.A., Hammad, Z.N. (2011). Identification of virulence factors in *Vibrio cholerae* isolated from Iraq during the 2007-2009 outbreak. *Can. J. Microbiol*, 57: 1024-1031.
- Sánchez Benavides, L. P. Caracterización molecular de aislamientos de *Vibrio* spp., recuperados de cuerpos de agua en Colombia y recuperados a través de la vigilancia por laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud (INS).
- Sánchez, C. C., & Guerrero, G. C. (2006). *Procedimientos en microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.*
- Sandalakis, V., Goniotakis, I., Vranakis, I., Chochlakis, D., & Psaroulaki, A. (2017). Use of MALDI-TOF mass spectrometry in the battle against bacterial infectious diseases: recent achievements and future perspectives. *Expert Review of Proteomics*, 14(3), 253-267.
- Sandoval, A., Carlos, G., & JIMÉNEZ, B. (1992). *Adiestramiento para la prevención y control de las enfermedades gastrointestinales en el sector en el agua. Determinación de coliformes fecales. 2a. edición. México, DF:*
- Sauñe Ramirez, Z. (2021). Trabajo académico realizado en el laboratorio de patología clínica hospital “Ernesto German Gonzales” Oxapampa 2019. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Comisión Nacional del Agua,
- Seetharaman, R., Kumaresan, S., Bragadeeswaran, S., Inayathullah, N., Visnu, B. y Thavamani, ST (2023). Perfil de la composición bacteriana en relación con los parámetros de calidad del agua en un sistema de acuicultura de agua salobre. *Revista de encuestas en ciencias pesqueras* , 10 (4S), 3354-3363.

- Shaw, K. S., Goldstein, R. E. R., He, X., Jacobs, J. M., Crump, B. C., Sapkota, A. R. (2014). Antimicrobial susceptibility of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* recovered from recreational and commercial areas of Chesapeake Bay and Maryland Coastal Bays. *PLoS One*, 9(2), e89616.
- Sheykhsaran, E., Baghi, H. B., Soroush, M. H., Ghotaslou, R. (2019). An overview of tetracyclines and related resistance mechanisms. *Reviews in Medical Microbiology*, 30(1), 69-75.
- Sierra, C. A. 2011. *Calidad del agua: evaluación y diagnóstico* (1.a ed.). Medellín: Universidad de Medellín.
- Singh DV, Matte MH, Matte GR, Jiang S, Sabena F, Shukla BN.(2001) Molecular analysis of *Vibrio cholerae* O1, O139, non-O1, and non-O139 strains: Clonal relationships between clinical and environmental isolates. *Appl Environ Microbiol*; 67:910-21.
- Singleton F, Attwell R, Jangi M, Colwell R. Effects of temperature and salinity on *Vibrio cholerae* growth. *Appl Environ Microbiol* 2008;44:1047-1058.
- Steenland MW, Gaffield ME, et al. Retention of intrauterine devices in women who acquire pelvic inflammatory disease: a systematic review. *Contraception* 2013;87: 655-60
- Sultan, Z., Miyoshi, S. y Shinoda. S. 2006. Presence of LuxS/AI-2 Based Quorum-Sensing System in *Vibrio mimicus*: LuxO Controls Protease Activity. *Microbiology and Immunology*. 50: 407-417
- Taylor, R., Miller, V., Furlong, D. y Mekalanos, J. 1987. Use of *phoA* gene fusions to identify a pilus colonization factor coordinately regulated with cholera toxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 84: 2833-2837.
- Tercero, J. 2008. *Detección de Posibles Factores de Virulencia de Vibrio mimicus Aislado de Agua y Alimentos*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, México D.F.
- Thompson, F. L., Iida, T., & Swings, J. (2004). Biodiversity of vibrios. *Microbiology and molecular biology reviews*, 68(3), 403-431.
- Thongchankaew U, Mittraparp-arthorn P, Sukhumungoon P, Tansila N, Nuidate T, Nishibuchi M, Vuddhakul V. Occurrence of potentially pathogenic vibrios and related environmental factors in Songkhla Lake, Thailand. *Can J Microbiol*. 2011 Nov;57(11):867-73. doi: 10.1139/w11-084. Epub 2011 Oct 20. PMID: 22014235.

- Torresi M, Sperandii A, Ricci L, Prencipe V, Migliorati G, Pomilio F. Detection and characterisation of potentially pathogenic species of *Vibrio* in the Vibrata river, Abruzzo Region, Italy. *Vet Ital.* 2018 Jun 30;54(2):125-135. doi: 10.12834/VetIt.759.3673.2. PMID: 30019329.
- Trivedi, M. K., Branton, A., Trivedi, D., Nayak, G., Mondal, S. C., & Jana, S. (2015). Biochemical differentiation and molecular characterization of biofield treated *Vibrio parahaemolyticus*. *American Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 3(5), 260-267.
- Urakawa, H. y Rivera, I. 2006. 12 Aquatic environment. VI Habitat and Ecology. En Thompson, F., Austin, B. y Swings, J. (Eds). *Biology of Vibrios* (pp. 175-189). Washington: ASM Press.
- V. Letchumanan, W. F. Yin, L. H. Lee, and K. G. Chan, "Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from retail shrimps in Malaysia," *Frontiers in Microbiology*, vol. 6, p. 33, 2015.
- Valáriková, J., Korcová, J., Ziburová, J., Čížová, A., Bieliková, S., Sojka, M., Farkaš, P. (2019). Potential pathogenicity and antibiotic resistance of aquatic *Vibrio* isolates from freshwater in Slovakia. *Folia Microbiologica*. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s12223-019-00760-w>.
- Vieira, V. V., Teixeira, L. F. M., Vicente, A. C. P., Momen, H., & Salles, C. A. (2001). Differentiation of environmental and clinical isolates of *Vibrio mimicus* from *Vibrio cholerae* by multilocus enzyme electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(5), 2360-2364.
- Vigueras-Morales, Y. S. (2019). Enzimas proteolíticas: generalidades y la importancia de las aspartil proteasas fúngicas. En *CIERMMI Mujeres en la ciencia T.4* (pp. 1–15). ECORFAN.
- Villafañe Ferrer, L. (2018). *Guía de laboratorio de microbiología determinada*. Corporación Universitaria Rafael Núñez.
- Villa-Soto, A., Sampieri-Ramírez, C. L., Arrazate-García, M. C., Sandoval-Lozano, V. H., Cocotle-Ronzón, Y., Soto-Ojeda, G. A., & Zamora-Bello, I. (2022). Actividad de las enzimas de la matriz extracelular 2 y 9 en leche humana, un estudio exploratorio. *Salud Jalisco*, 9(Esp), 45-51.
- Wang, Y., Wang, H., Liang, W., Hay, A. J., Zhong, Z., Kan, B., & Zhu, J. (2013). Quorum sensing regulatory cascades control *Vibrio fluvialis* pathogenesis.

Journal of Bacteriology, 195(16), 3583–3589.
<https://doi.org/10.1128/JB.00508-13>

Wannamaker LW. Streptococcal deoxyribonucleasc. 1m Uhr cd. The Streptococcus. Rheumatic Fever. Glomcrulonephritis. Baltimore: Williams & Wilkins 1964: 140-165.

World Health Organization Global Task Force on Cholera Control. First steps for managing an outbreak of acute diarrhoea. Geneva: The Organization; 2004. [citado 23 de mayo de 2011]. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2010/WHO_CDS_CSR_NCS_2003.7_Rev.2_eng.pdf

Yen, N. T. P., Nhung, N. T., Van, N. T. B., Van Cuong, N., Chau, L. T. T., Trinh, H. N., Van Tuat, C., Tu, N. D., Lan, N. P. H., Campbell, J., Thwaites, G., Baker, S., Carrique-Mas, J. (2020). Antimicrobial residues, nontyphoidal Salmonella, Vibrio spp. and associated microbiological hazards in retail shrimps purchased in Ho Chi Minh city (Vietnam). Food control, 107, 106756.

Zago, V., Veschetti, L., Patuzzo, C., Malerba, G., Lleo, M. M. (2020b). Shewanella algae and Vibrio spp. strains isolated in Italian aquaculture farms are reservoirs of antib

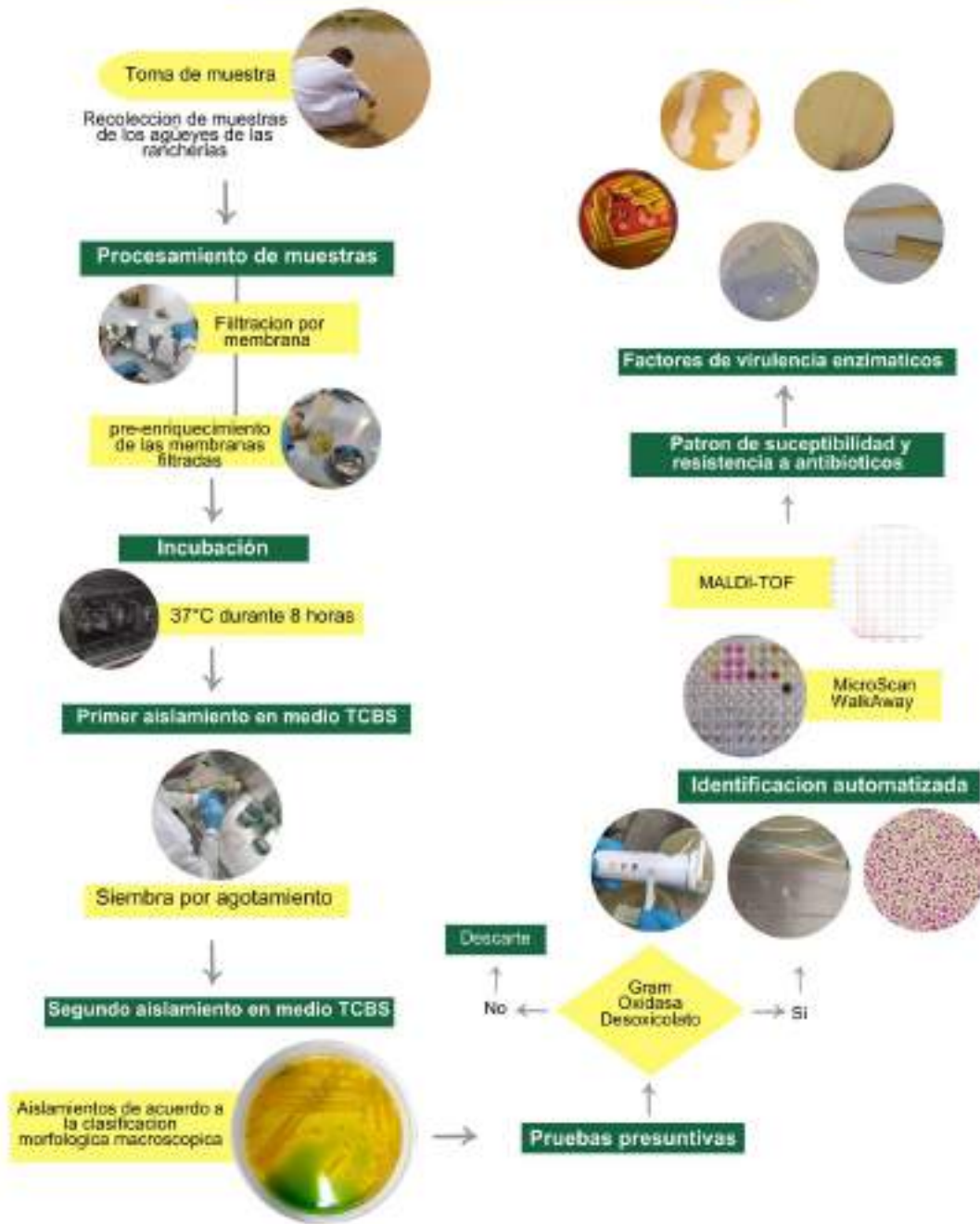
Zavala, A., Quiñones, E. y Vazquez, C. (2005). La vida oscura de Vibrio alginolyticus. Revista Digital Universitaria-Unam, 6 (4).

Zhou, H., Liang, Y., Gao, L., Ren, J., Xue, F., Guo, D., Jiang, Y., Yang, Z., Lian, L., Dai, J. (2019). Identification and expression analyses of new genes associated with ciprofloxacin resistance in Vibrio parahaemolyticus. Food Research International, 125, 108629.

11. ANEXOS

Anexo 1. *Grafico.* Diagrama de flujo de la metodología empleada en la investigación

Caracterización de *Vibrio* spp



Anexo 2. Cuestionario realizado a los habitantes de las rancherías muestreadas

Encuesta para diagnóstico comunitario de las rancherías muestreadas

I. Familia

1. ¿Cuántas personas viven en su casa?
2. Número de hijos
3. Edad de los hijos
4. ¿En qué trabajan los adultos de su casa?

II. Condiciones de vivienda

1. ¿Su casa es propia, rentada o prestada?
2. ¿Cuánto tiempo tiene viviendo en esta colonia?
3. ¿Cuántas habitaciones tiene su casa?

III. Saneamiento básico

1. ¿Con cuáles servicios públicos cuenta su hogar?
2. ¿Cómo se abastecen de agua?
3. ¿Qué uso le dan al jagüey de la ranchería?
4. ¿Han presentado recientemente síntomas de diarrea, vómitos y náuseas en niños o adultos?

Anexo 3. Imagen. Elaboración de medios de cultivos y agua peptonada alcalina con pH de 7,6 y 8,6



Anexo 4. Imagen. Rotulo de identificacion de las muestras según Standard Methods,23rd edition



Anexo 5. Imagen. Jagueyes de las rancherías muestreadas



Anexo 6. Tabla. Resultados de pH de los jagueyes muestreados.

Lugares muestreados		pH
Urruracha	URRU1	7,4
	URRU2	7,3
	URRU3	7,3
Kalinapion	KALI1	7,6
	KALI2	7,5
	KALI3	7,4
Corintios	CORI1	7,4
	CORI2	7,3
	CORI3	7,3
Talaaulamana	TALA1	7,3
	TALA2	7,2
	TALA3	7,6
Coropontain	CORO1	7,2
	CORO2	7,2
	CORO3	7,1
Kalinapion B	KALIB1	8,0
	KALIB2	7,8
	KALIB3	7,9

Anexo 7. Imagen. Alistamiento, filtración y preenriquecimiento de las muestras.



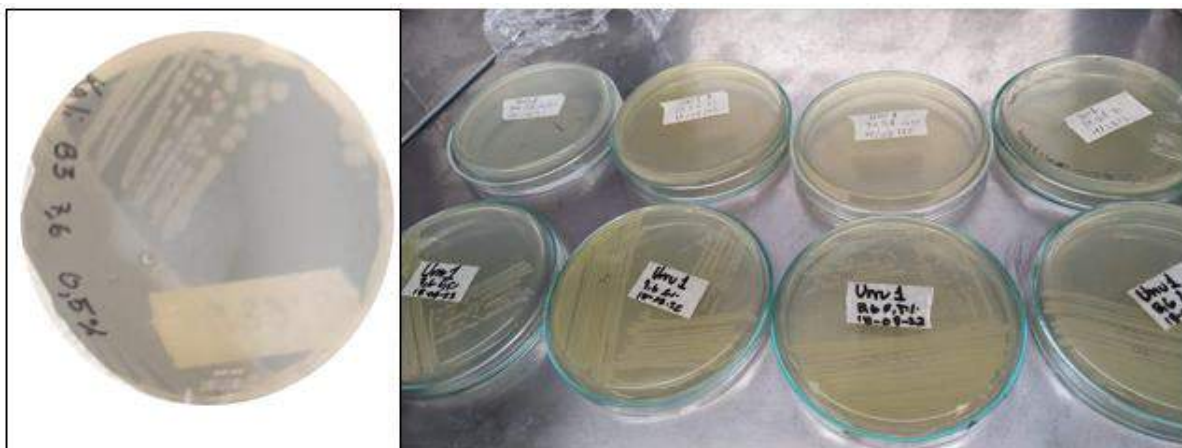
Anexo 8. Imagen. Evaluación de la selectividad del Agar TCBS inoculado con *Bacillus* spp, *E.coli*, *k.pneumoniae* y *S.aureus*



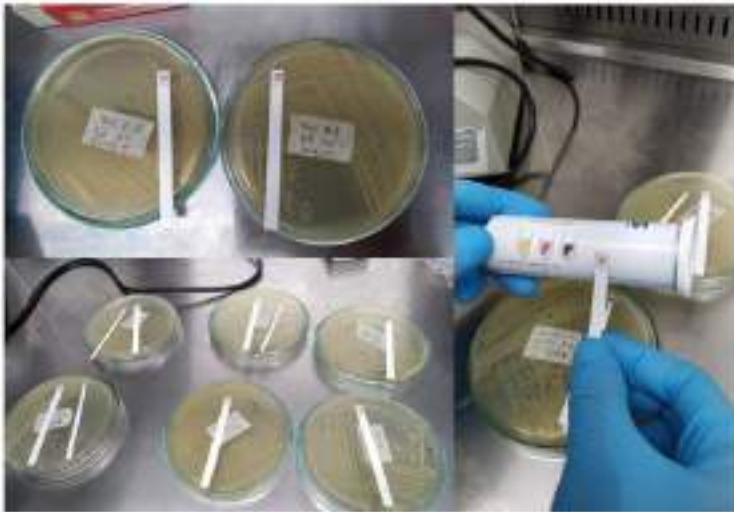
Anexo 9. Imagen. Aislamiento en Agar TCBS



Anexo 10. Imagen. Aislamiento en Agar nutritivo.



Anexo 11. Imagen. Prueba Oxidasa de las cepas aisladas



Anexo 12. Imagen. Prueba de la cuerda



Anexo 13. Imagen. Resultado de Panel Neg combo tipo 72 del equipo Microscan Walkaway



Anexo 14. Imagen. Algunos reportes emitidos de identificación por comportamiento bioquímico de las cepas

Cepa Kali B2 7,6 0,5 %

Nombre del paciente	KAJ1 B2 7,6 0,5 %	Fecha de estudio	04/03/2011
Nombre del paciente	0204745480718 2-1	Fecha estudio	04/03/2011
Origen	Laboratorio	Centro de estudio	0204745480718 2-1
Operador	Nej Cortés T2	Tiempo	6
Metodología	WalkAway 6700 II	Revisión	5
Estado panel	En WalkAway Corriendo	Revisión	5

Datos obtenidos directamente de WalkAway	
Nombre	0204745480718 2-1
Identificación de microorganismo	5. SHIGELLA - <i>Shigella</i> sp. (L3) - CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS
1. Shigella	80.75 50
2. Shigella flexneri	1.50 50
3. Diferencia	1.25 50

Datos almacenados en la base de datos de LabPro	
Nombre	0204745480718 2-1
Identificación de microorganismo	5. SHIGELLA - <i>Shigella</i> sp. (L3) - CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS
1. Shigella	80.75 50
2. Shigella flexneri	1.50 50
3. Diferencia	1.25 50

Cepa Kali 1 8,6 0,5 %

Nombre del paciente	KAJ1 B2 7,6 0,5 %	Fecha de estudio	04/03/2011
Nombre del paciente	0204745480718 2-1	Fecha estudio	04/03/2011
Origen	Laboratorio	Centro de estudio	0204745480718 2-1
Operador	Nej Cortés T2	Tiempo	6
Metodología	WalkAway 6700 II	Revisión	5
Estado panel	En WalkAway Corriendo	Revisión	5

Datos obtenidos directamente de WalkAway	
Nombre	0204745480718 2-1
Identificación de microorganismo	5. SHIGELLA - <i>Shigella</i> sp. (L3) - CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS
1. Shigella	80.75 50
2. Shigella flexneri	1.50 50
3. Diferencia	1.25 50

Datos almacenados en la base de datos de LabPro	
Nombre	0204745480718 2-1
Identificación de microorganismo	5. SHIGELLA - <i>Shigella</i> sp. (L3) - CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS
1. Shigella	80.75 50
2. Shigella flexneri	1.50 50
3. Diferencia	1.25 50

Cepa Kali 2 7,6 2%

Nombre del paciente	KAJ1 B2 7,6 0,5 %	Fecha de estudio	04/03/2011
Nombre del paciente	0204745480718 2-1	Fecha estudio	04/03/2011
Origen	Laboratorio	Centro de estudio	0204745480718 2-1
Operador	Nej Cortés T2	Tiempo	6
Metodología	WalkAway 6700 II	Revisión	5
Estado panel	En WalkAway Corriendo	Revisión	5

Datos obtenidos directamente de WalkAway	
Nombre	0204745480718 2-1
Identificación de microorganismo	5. SHIGELLA - <i>Shigella</i> sp. (L3) - CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS
1. Shigella	80.75 50
2. Shigella flexneri	1.50 50
3. Diferencia	1.25 50

Datos almacenados en la base de datos de LabPro	
Nombre	0204745480718 2-1
Identificación de microorganismo	5. SHIGELLA - <i>Shigella</i> sp. (L3) - CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS
1. Shigella	80.75 50
2. Shigella flexneri	1.50 50
3. Diferencia	1.25 50

Cepa Kali 3 8,6 2%

Nombre del paciente	KAJ1 B2 7,6 0,5 %	Fecha de estudio	04/03/2011
Nombre del paciente	0204745480718 2-1	Fecha estudio	04/03/2011
Origen	Laboratorio	Centro de estudio	0204745480718 2-1
Operador	Nej Cortés T2	Tiempo	6
Metodología	WalkAway 6700 II	Revisión	5
Estado panel	En WalkAway Corriendo	Revisión	5

Datos obtenidos directamente de WalkAway	
Nombre	0204745480718 2-1
Identificación de microorganismo	5. SHIGELLA - <i>Shigella</i> sp. (L3) - CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS
1. Shigella	80.75 50
2. Shigella flexneri	1.50 50
3. Diferencia	1.25 50

Datos almacenados en la base de datos de LabPro	
Nombre	0204745480718 2-1
Identificación de microorganismo	5. SHIGELLA - <i>Shigella</i> sp. (L3) - CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS
1. Shigella	80.75 50
2. Shigella flexneri	1.50 50
3. Diferencia	1.25 50

Anexo 15. Resultado de identificación proteómica (MALDI-TOF) de las cepas en estudio

*Resultado de la cepa KaliB2 7,6 0,5 %

LCC | LABORATORIO CLINICO CONTINENTAL

Página 1 de 3

Orden No.: 10240219

EDAD: 3 Días
SEXO: Indefinido
FECHA NACIMIENTO: 2023-10-24

PACIENTE: AMBIENTAL
INGRESO: 2023-10-24 10:18
MEDICO: PARTICULAR
HISTORIA: KALIB27685
SEDE: SEDE PRINCIPAL
TELÉFONO:
EMPRESA: PARTICULAR

Fecha Hora Impresión: 2023-10-23 09:44

Examen	Resultado	Unidades	Intervalo Biológico de Referencia	Fecha Validación
MICROBIOLOGIA				
IDENTIFICACION DE CEPAS				24/10/2023 16:42:28
La cepa analizada fue enviada al laboratorio clínico continental.				
Método IDENTIFICACION: MALDI TOF MS				
Método: ELECTROFÓRESIS DE GEL + MALDI-TOF				

*Resultado de la cepa Kali B1 7,6 2 %

LCC | LABORATORIO CLINICO CONTINENTAL

Página 1 de 3

Orden No.: 10240318

EDAD: 3 Días
SEXO: Indefinido
FECHA NACIMIENTO: 2023-10-24

PACIENTE: AMBIENTAL
INGRESO: 2023-10-24 09:08
MEDICO: PARTICULAR
HISTORIA: KALIB1762
SEDE: SEDE PRINCIPAL
TELÉFONO:
EMPRESA: PARTICULAR

Fecha Hora Impresión: 2023-10-24 09:43

Examen	Resultado	Unidades	Intervalo Biológico de Referencia	Fecha Validación
MICROBIOLOGIA				
IDENTIFICACION DE CEPAS				24/10/2023 16:47:46
La cepa analizada fue enviada al laboratorio clínico continental.				
Método IDENTIFICACION: MALDI TOF MS				
Método: ELECTROFÓRESIS DE GEL + MALDI-TOF				

*Resultado de la cepa Kali 2 8,6 2 %

LCC | LABORATORIO CLINICO CONTINENTAL

Página 1 de 3

Orden No.: 10240314

EDAD: 3 Días
SEXO: Indefinido
FECHA NACIMIENTO: 2023-10-24

PACIENTE: AMBIENTAL
INGRESO: 2023-10-24 18:08
MEDICO: PARTICULAR
HISTORIA: KALI2862
SEDE: SEDE PRINCIPAL
TELÉFONO:
EMPRESA: PARTICULAR

Fecha Hora Impresión: 2023-10-23 09:43

Examen	Resultado	Unidades	Intervalo Biológico de Referencia	Fecha Validación
MICROBIOLOGIA				
IDENTIFICACION DE CEPAS				24/10/2023 16:47:11
La cepa analizada fue enviada al laboratorio clínico continental.				
Método IDENTIFICACION: MALDI TOF MS				
Método: ELECTROFÓRESIS DE GEL + MALDI-TOF				

Anexo 16. Resultado de identificación proteómica (MALDI-TOF) de las cepas en estudio

*Resultado de la cepa KaliB2 8,6 0,5 %



LABORATORIO CLINICO CONTINENTAL

Página 1 de 3

Orden No.: 18240313

EDAD: 8 Días

SEXO: Indefinido

FECHA NACIMIENTO: 2023-10-24



PACIENTE: AMBIENTAL
 INGRESO: 2023-10-24 10:55
 MEDICO: PARTICULAR
 HISTORIA: KALIB2685
 SEDE: SEDE PRINCIPAL
 TELÉFONO: -
 EMPRESA: PARTICULAR



Fecha Hora Impresión: 2023-10-25 09:42

Examen	Resultado	Unidades	Intervalo Biológico de Referencia	Fecha Validación
MICROBIOLOGIA				
IDENTIFICACION DE CEPAS				24/10/2023 16:48:23
<p>La información analizada fue enviada al LABORATORIO CLINICO CONTINENTAL.</p> <p>SEDE IDENTIFICACION: SEDE PRINCIPAL</p> <p>METODO: ELECTROFONFORESIS DE GEL - MALDI-TOF</p>				
<p>Profesional en Salud Responsable: <i>Maria V. Díaz</i></p>				

*Resultado de la cepa KaliB3 7,6 0,5 %



LABORATORIO CLINICO CONTINENTAL

Página 1 de 1

Orden No.: 18240318

EDAD: 8 Días

SEXO: Indefinido

FECHA NACIMIENTO: 2023-10-24



PACIENTE: AMBIENTAL
 INGRESO: 2023-10-24 10:03
 MEDICO: PARTICULAR
 HISTORIA: KALIB3785
 SEDE: SEDE PRINCIPAL
 TELÉFONO: -
 EMPRESA: PARTICULAR



Fecha Hora Impresión: 2023-10-25 09:41

Examen	Resultado	Unidades	Intervalo Biológico de Referencia	Fecha Validación
MICROBIOLOGIA				
IDENTIFICACION DE CEPAS				24/10/2023 16:45:41
<p>La información analizada fue enviada al LABORATORIO CLINICO CONTINENTAL.</p> <p>SEDE IDENTIFICACION: SEDE PRINCIPAL</p> <p>METODO: ELECTROFONFORESIS DE GEL - MALDI-TOF</p>				
<p>Profesional en Salud Responsable: <i>Maria V. Díaz</i></p>				

*Resultado de la cepa KaliB3 8,6 2 %



LABORATORIO CLINICO CONTINENTAL

Página 1 de 3

Orden No.: 18240308

EDAD: 8 Días

SEXO: Indefinido

FECHA NACIMIENTO: 2023-10-24



PACIENTE: AMBIENTAL
 INGRESO: 2023-10-24 18:01
 MEDICO: PARTICULAR
 HISTORIA: KALIB383
 SEDE: SEDE PRINCIPAL
 TELÉFONO: -
 EMPRESA: PARTICULAR



Fecha Hora Impresión: 2023-10-25 09:39

Examen	Resultado	Unidades	Intervalo Biológico de Referencia	Fecha Validación
MICROBIOLOGIA				
IDENTIFICACION DE CEPAS				24/10/2023 16:46:19
<p>La información analizada fue enviada al LABORATORIO CLINICO CONTINENTAL.</p> <p>SEDE IDENTIFICACION: SEDE PRINCIPAL</p> <p>METODO: ELECTROFONFORESIS DE GEL - MALDI-TOF</p>				
<p>Profesional en Salud Responsable: <i>Maria V. Díaz</i></p>				

Anexo 17. Tabla. Criterio de interpretación a antimicrobianos que aplican al género *Vibrio* spp según el Instituto de Estándares clínicos y de Laboratorio (CLSI)

Clase de antimicrobiano	Agente antimicrobiano	Criterio de interpretación MIC ($\mu\text{g} / \text{mL}$)		
		Susceptible	Intermedio	Resistente
PENICILINAS Y COMBINACIONES DE β-LACTAM/INHIBIDOR DE β-LACTAMASA				
	Ampicilina	≤ 8	16	≥ 32
	Ampicilina-sulbactam	$\leq 8/4$	16/8	$\geq 32/16$
	Piperacilina	≤ 16	32–64	≥ 128
CEFEMAS (Cefalosporinas)				
	Cefazolina	≤ 2	4	≥ 8
	Cefepima	≤ 2	4-8	≥ 16
	Cefotaxima	≤ 1	2	≥ 4
	Cefoxitina	≤ 8	16	≥ 32
	Ceftazidima	≤ 4	8	≥ 16
CARBAPENÉMICOS				
	Imipenem	≤ 1	2	≥ 4
	Meropenem	≤ 1	2	≥ 4
AMINOGLICOSIDOS				
	Amicacina	≤ 16	32	≥ 64
	Gentamicina	≤ 4	8	≥ 16
TRETRACICLINAS				
	Tetraciclina	≤ 4	8	≥ 16
FLUOROQUINOLONAS				
	Ciprofloxacina	≤ 1	2	≥ 4
	Levofloxacina	≤ 2	4	≥ 8
INHIBIDORES DE LA VÍA DEL FOLATO				
	Trimetoprim sulfametoxazol	$\leq 2/38$	-	$\geq 4/76$

Anexo 19. Tabla. Resultados por cepas del perfil de susceptibilidad y resistencia a antibióticos

Código de la muestra	β-LACTAM/ β-LACTAMASA			CEFEMAS					CARBAPENÉMICOS		AMINOGLICOSIDOS		TETRACICLINAS	FLUOROQUINOLONAS		INHIBIDORES
	Ampicilina	Ampicilina-sulbactam	Piperacilina	Cefazolina	Cefepima	Cefotaxima	Cefoxitina	Ceftazidima	Imipenem	Meropenem	Amicacina	Gentamicina	Tetraciclina	Ciprofloxacina	Levofloxacina	Trimetoprim-sulfametoxazol
URRU1 7,6-0,5%	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
URRU1 7,6-2%	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
URRU1 8,6-0,5%	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
URRU1 8,6-2%	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALI1 7,6-0,5%	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
KALI1 7,6-2%	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALI1 8,6-0,5%	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALI1 8,6-2%	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALI2 7,6-0,5%	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALI2 7,6-2%	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
KALI2 8,6-2%	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALI3 7,6-0,5%	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALI3 7,6-2%	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALI3 8,6-0,5%	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALI3 8,6-2%	S	S	S	I	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S	S	S
KALIB1 7,6-0,5%	S	S	S	I	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S	S	S
KALIB1 7,6-2%	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALIB1 8,6-0,5%	S	S	S	I	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
KALIB1 8,6-2%	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALIB2 7,6-0,5%	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALIB2 7,6-2%	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALIB2 8,6-0,5%	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALIB2 8,6-2%	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALIB3 7,6-0,5%	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
KALIB3 7,6-2%	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KALIB3 8,6-0,5%	S	S	S	I	S	S	S	I	I	S	S	R	S	S	S	S
KALIB3 8,6-2%	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

